

Aus der Klinik und Poliklinik für  
Hals-Nasen-Ohrenheilkunde der Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. Alexander Berghaus

**Etablierung eines Tiermodells zur Untersuchung der Veränderungen der  
Distorsionsprodukte otoakustischer Emissionen (DPOAE) durch verschiedene  
Faktoren und Beschreibung frequenzspezifischer DPOAE-Veränderungen unter  
Hypoxie**

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt  
von  
Gregor Gleichenstein

aus  
Starnberg

2013

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichtersteller: Prof. Dr. med. Bernhard Olzowy

Mitberichtersteller: PD Dr. Matthias Elstner  
Prof. Dr. Alexander Baethmann

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c. M. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 21.03.2013

## **Inhaltsverzeichnis:**

<b>1. Einleitung .....</b>	<b>1</b>
1.1. Physiologie und Anatomie des Hörens .....	1
1.1.1. Békésys Wanderwellentheorie .....	1
1.1.2. Der cochleäre Verstärkermechanismus .....	3
1.2. Otoakustische Emissionen (OAE).....	4
1.2.1. Entstehung, Formen und Einteilung von OAE .....	4
1.2.2. Distorsionsprodukte Otoakustischer Emissionen (DPOAE) .....	5
1.3. Derzeitige Anwendungsbereiche Otoakustischer Emissionen .....	6
1.3.1. Neugeborenenhörscreening .....	6
1.3.2. Topodiagnostik von Hörstörungen .....	7
1.4. Potentielle Anwendungsbereiche Otoakustischer Emissionen .....	8
1.4.1. Indirekte Hirndruckmessung .....	8
1.4.2. Hypoxie als mögliche Hörsturzursache .....	9
1.5. Fragestellung der vorliegenden Dissertation .....	10
 <b>2. Material und Methoden .....</b>	 <b>11</b>
2.1. Versuchstiere .....	11
2.2. Durchführung der Versuche und Materialien .....	11
2.2.1. Narkose .....	11
2.2.2. Monitoring .....	11
2.2.3. Validierung der Pulsoxymetrie mittels Blutgasanalyse .....	12
2.2.4. Erzeugung und Überwachung der Hypoxie .....	13
2.2.5. DPOAE-Messeinheit und verwendete Parameter .....	13
2.3. Versuchsprotokolle .....	15
2.3.1. kontinuierliche Einzelfrequenzmessung .....	16
2.3.2. kontinuierlich aufgezeichnetes DP-Gram .....	16
2.4. Statistik .....	17
2.4.1. kontinuierliche Einzelfrequenzmessung .....	17
2.4.2. kontinuierlich aufgezeichnetes DP-Gram .....	18
 <b>3. Ergebnisse .....</b>	 <b>19</b>
3.1. Validierung der Pulsoxymetrie .....	19
3.2. Kontinuierliche Einzelfrequenzmessung .....	19
3.2.1. Monitoring der Vitalwerte .....	19
3.2.2. DPOAE-Messungen .....	20
3.3. Kontinuierlich aufgezeichnetes DP-Gram .....	24
3.3.1. Monitoring der Vitalwerte .....	24
3.3.2. DPOAE-Messungen .....	24

<b>4. Diskussion .....</b>	<b>33</b>
4.1. Diskussion des Modells .....	33
4.1.1. Versuchstiere .....	33
4.1.2. Narkose und Monitoring .....	33
4.1.3. Hypoxie .....	34
4.2. Diskussion der Ergebnisse .....	35
4.2.1. DPOAE-Messungen .....	35
4.2.2. DPOAE-Veränderungen unter Hypoxie in der Literatur .....	36
4.2.3. Destabilisierung und zeitlicher Verlauf der DPOAE unter Hypoxie..	37
4.2.4. DPOAE-Pegelabnahme unter Hypoxie .....	40
4.2.5. Frequenzspezifische DPOAE-Veränderungen unter Hypoxie .....	40
4.3. Ausblick .....	42
 <b>5. Zusammenfassung .....</b>	 <b>43</b>
 <b>6. Literaturverzeichnis .....</b>	 <b>45</b>
 <b>7. Abkürzungsverzeichnis .....</b>	 <b>53</b>
 <b>8. Danksagung .....</b>	 <b>54</b>
 <b>9. Lebenslauf .....</b>	 <b>55</b>

# 1. Einleitung

## 1.1 Physiologie und Anatomie des Hörens

### 1.1.1 Békésys Wanderwellentheorie

Die Funktionsweise des Hörorgans der Säugetiere ist hochkomplex und bis heute nicht vollständig geklärt. Die Grundlage der heutigen Hörtheorie wurde in der ersten Hälfte des 20. Jahrhunderts durch Békésys Wanderwellentheorie gelegt (Békésy, 1952). Ein akustischer Reiz mit Schallwellen bestimmter Wellenlänge erreicht das Trommelfell und wird nun über das Mittelohr zum ovalen Fenster weitergeleitet. Hier beginnt die von Felsenbein knöchern eingefasste Cochlea, welche aus der umgebenden Stria vascularis, drei flüssigkeitsgefüllten Gängen (Scala vestibuli, Scala media und Scala tympani) und der Basilarmembran mit dem Corti-Organ aufgebaut ist (Siehe Abbildung 1).

Am ovalen Fenster stößt der Impuls der Stapesfußplatte eine Wanderwelle an, die sich entlang der Basilarmembran ausbreitet. Auf der Basilarmembran sitzt das Corti-Organ. Dieses enthält mit den in einer Reihe zum Zentrum der Cochlea liegenden Inneren Haarzellen (inner hair cells, IHC) die Sinneszellen für die Transduktion des akustischen Reizes in ein neuronales Signal. Weiter vom Zentrum weg befinden sich die Äußeren Haarzellen (outer hair cells, OHC). Diese sind in drei Reihen angeordnet und stehen über ihre Stereovilli mit der Tektorialmembran in Verbindung (siehe Abbildung 2).

Die Wanderwelle bildet nun für verschiedene Frequenzen Maxima an verschiedenen Stellen der Cochlea. Für hohe Frequenzen liegt dieses in den basalen Windungen der Cochlea und rückt mit abnehmender Frequenz zunehmend nach apikal. Ursache dafür ist die unterschiedliche Beschaffenheit der Basilarmembran, welche an den basalen Windungen schmal (ca. 0,1 mm) und steif ist und nach apikal zunehmend breiter (bis 0,5 mm) und elastischer wird. Der Ort des Maximums kodiert aufgrund der tonotopen zentralen Verschaltung der einzelnen Bereiche des Corti Organs für einen bestimmten Frequenzbereich. An der Spitze der Cochlea sind Scala vestibuli und Scala tympani über das Helicotrema verbunden. Da das Ende der Scala tympani von der häutigen Membran des runden Fensters gebildet wird, kann hier ein Ausgleich des eingehenden Druckes erfolgen.

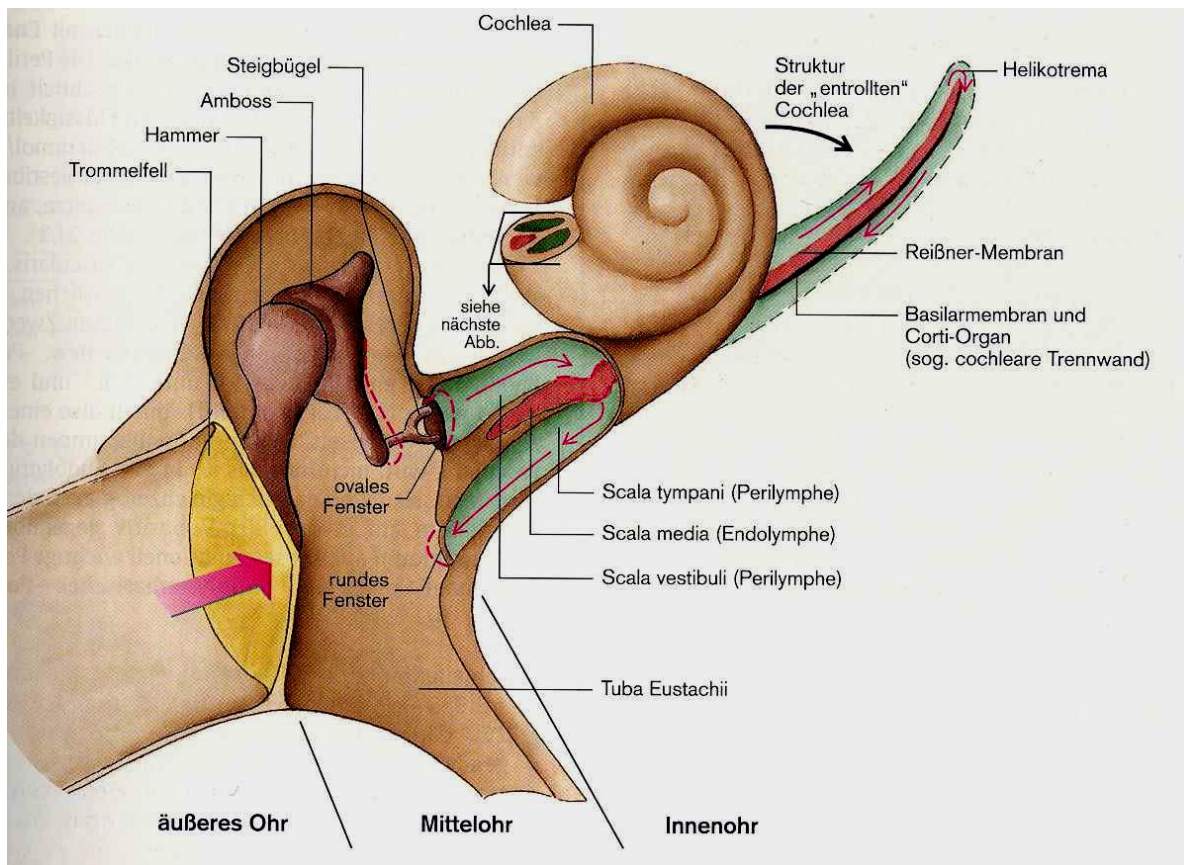


Abb. 1: Schema von Mittelohr und Innenohr. Die Cochlea ist entrollt, um die Scalae besser darstellen zu können. Bewegungen des Steigbügels übertragen sich auf die Perilymphe der Scala vestibuli. (Aus Klinke, Silbernagl, Lehrbuch der Physiologie, 2003)

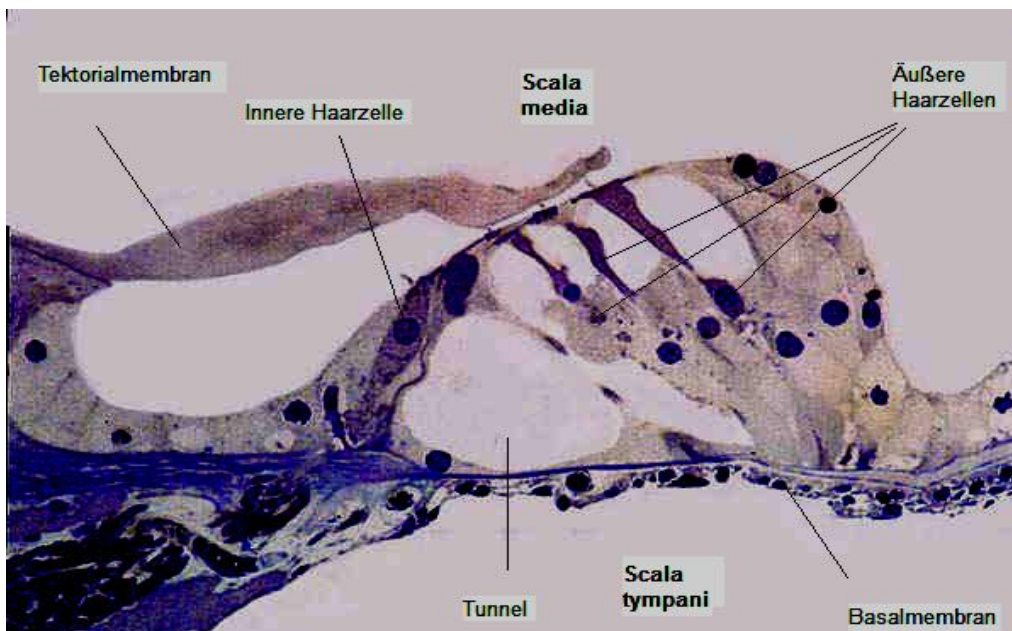


Abb. 2: Corti-Organ des Meerschweinchens, Azan-Färbung, semidünn (modifiziert nach Abbildung auf der Homepage der Medizinischen Hochschule Hannover, Institut für funktionelle und angewandte Anatomie, <http://www.mh-hannover.de/19210.html>, Download am 15.6.12)

Die Blutversorgung der Cochlea erfolgt über die A. labyrinthi. Diese geht in den meisten Fällen von der aus der A. basilaris stammenden A. inferior anterior cerebelli hervor, seltener auch als Direktabgang der A. basilaris. Mit dem N. vestibulocochlearis zieht sie durch den Inneren Gehörgang.

### **1.1.2 Der cochleäre Verstärkermechanismus**

Bei Békésys Versuchen ex vivo an der präparierten Cochlea führten die Spitzen der Wanderwelle nach Beschallung mit einem Reinton zu einer Auslenkung von über einem Drittel der gesamten Cochlea. Die enorme Frequenzspezifität des menschlichen Gehörs war durch Békésys Modell somit nicht erklärbar, ebenso wenig die Fähigkeit Schall in einem Energiebereich von mehr als  $10^6$  Joule zu verarbeiten (Dallas, 1992). Tatsächlich zeigten spätere Versuche in vivo, dass der von der Spitze der Wanderwelle umfasste Bereich frequenzabhängig um ein vielfaches geringer ist (Johnstone, 1986) und zwei Töne mit einem Frequenzunterschied von einem Drittel einer Oktave eine gänzlich unterschiedliche Einheit von Haarzellen aktivieren (Kemp, 2002).

Aufgrund dieses Widerspruchs postulierte der britische Physiker Thomas Gold bereits 1948 die Existenz eines der Trägheit der Endolymphe entgegenwirkenden Verstärkermechanismus der Cochlea in vivo (Gold 1948). Einen Hinweis auf diesen konnte allerdings erst 1978 David Kemp finden, in dem er von der Cochlea generierte Schallsignale experimentell nachweisen konnte (Kemp, 1978). 1985 konnte gezeigt werden, dass OHC nach Anlegen einer elektrischen Spannung sich aktiv kontrahieren (Brownell, 1985; Zenner 1985).

Heute ist die Hypothese, dass durch die aktive Kontraktion der OHC ein lokal sehr begrenzter Bereich des Corti-Organs aktiviert wird, allgemein akzeptiert. Hierbei wird angenommen, dass durch die Auslenkung von Basilarmembran und Tektorialmembran Scherkräfte entstehen, welche die Stereovilli der OHC auslenken und je nach Bewegungsrichtung tip links schließen oder öffnen. Bei Aufwärtsbewegung öffnen sich hierdurch Kaliumkanäle und es kommt durch den Gradienten zwischen Zellinnerem und der kaliumreichen Endolymphe zum Einstrom von Kaliumionen mit folgender Depolarisation der OHC. Zahlreiche (ca.  $10^7$ ) in der Membran enthaltene, als Prestin bezeichnete Motorproteine, erfahren so eine Ladungsänderung und verändern ihre Struktur. Bei Abwärtsbewegung entsteht durch

das Schließen der tip links eine Hyperpolarisation. Durch den Wechsel von Depolarisation und Hyperpolarisation resultiert eine oszillierende Längenänderung der OHC (Ashmore, 2002).

Wie oben erwähnt, ist die treibende Kraft für die Kontraktionen der OHC das durch die kaliumreiche Endolymphe bedingte Endocochleäre Potential (EP). Da die Perilymphe als Blutultrafiltrat einen niedrigen Kalium- und hohen Natriumgehalt hat besteht ein großer Spannungsgradient zwischen Perilymphe und Endolymphe. Aufrecht erhalten wird er durch Kalumpumpen in der Stria vascularis (Tasaki 1959, Hibino 2010).

Die Cochlea wirkt somit wie ein Verstärker. Erst durch die hierdurch entstehenden Kräfte wird die Auslenkung des Corti-Organs auch bei leisen Tönen ausreichend groß für eine mechanoelektrische Übertragung des Signals in den Inneren Haarzellen. Die genauen biochemischen, biophysikalischen und molekularbiologischen Vorgänge sind dabei jedoch nach wie vor nicht sicher geklärt und Bestandteil kontroverser Diskussionen (Ashmore, 2010).

## **1.2 Otoakustische Emissionen**

### **1.2.1 Entstehung, Formen und Einteilung Otoakustischer Emissionen**

Durch die Kontraktion der Äußeren Haarzellen kommt es nicht nur zu einer Verstärkung der ursprünglichen Wanderwelle, sondern durch die Auslenkung der Basilarmembran auch zur Bildung einer zusätzlichen, nach retrograd laufenden Druckwelle. Diese wird wiederum über das Mittelohr in den Gehörgang übertragen und in ein akustisches Signal transformiert. Im Gehörgang können diese als Otoakustische Emissionen (OAE) bezeichneten Schallsignale mittels eines Mikrophons aufgezeichnet werden. Charakteristisch ist eine große interindividuelle Variabilität der Lautstärke für verschiedene Frequenzen. Innerhalb eines Individuums besteht jedoch sowohl über die Zeit als auch im Seitenvergleich eine große Konstanz (Wagner 2008).

OAE teilt man nach dem Auslösemechanismus in verschiedene Gruppen ein.

Zum einen unterscheidet man zwischen mittels eines akustischen Reizes evozierten OAE (EOAE) und spontanen OAE (SOAE). Letztere, erstmals von Zurek 1981 in 16 von 32 normal hörenden Personen nachgewiesen, treten auch bei normal hörenden



Personen nur inkonstant auf (Zurek, 1981). Mit verbesserten technischen Möglichkeiten stieg zwar die Nachweishäufigkeit in neueren Studien an (Boul 2010), aufgrund ihrer Inkonstanz sind sie jedoch weiterhin von sehr geringer klinischer Bedeutung.

Die EOAE unterscheidet man nach dem applizierten Reiz. Von großer klinischer Bedeutung sind die transitorisch evozierten Otoakustischen Emissionen (TEOAE) und die Distorsionsprodukte Otoakustischer Emissionen (DPOAE), während den Stimulus-Frequenz Otoakustischen Emissionen (SFOAE) bislang keine klinische Relevanz zukommt.

Bei den von Kemp 1978 erstmals nachgewiesenen OAE handelte es sich um TEOAE. Diese werden durch einen ein breites Frequenzspektrum umfassenden Klickton ausgelöst. Die resultierenden OAE können in ihre Einzelfrequenzen zerlegt werden und lassen somit eine Beurteilung der Funktionsfähigkeit der einzelnen Frequenzbereiche des Corti-Organs zu. Aufgrund ihrer hohen Sensitivität sind sie vor allem als Screeninguntersuchung von großer Bedeutung (Kemp, 2002). Dagegen werden im wissenschaftlichen Bereich aufgrund ihrer größeren Flexibilität und des breiteren einsetzbaren Frequenzbereichs DPOAE häufiger angewandt.

### **1.2.2 Distorsionsprodukte Otoakustischer Emissionen**

Bei den DPOAE werden zwei Reintöne mit spezifischem Frequenz- und Schalldruckverhältnis in den Gehörgang abgegeben. Durch Verzerrungseffekte innerhalb der nicht-linear agierenden Cochlea entstehen weitere Signale bestimmter Frequenzen. Diese können nach der Formel  $f_{dp} = f_1 + N(f_2 - f_1)$  berechnet werden. Für N kann jede positive oder negative ganze Zahl eingesetzt werden. Hauptsächlich wird aufgrund seiner großen Schalldruckpegel das Produkt aus  $f_{dp} = f_1 + (-1)(f_2 - f_1)$ , oder vereinfacht  $f_{dp} = 2f_1 - f_2$ , verwendet.

Technisch bedingt kann dabei das DPOAE-Signal nicht direkt von Störgeräuschen mit derselben Frequenz unterschieden werden. Mittels Signalmittelung und fast Fourier Transformation versucht man das Grundrauschen (englisch noise floor) zu minimieren. Das Störgeräusch in der Emissionsfrequenz wird abgeschätzt, in dem jeweils über einen engen Frequenzbereich über und unter der Emissionsfrequenz gemittelt wird. Ein Signal-Rausch-Verhältnis von größer 6 dB wird allgemein als

ausreichend sicher angesehen, um von einem cochleären Signal ausgehen zu können (Wagner 2008).

Um ein Distorsionsprodukt mit möglichst hohem Pegel zu messen, müssen sich die Anregungstöne in Frequenz und Lautstärke jeweils geringfügig unterscheiden. Dabei wird der optimale Pegelunterschied größer, je leiser die Anregungstöne gewählt werden. Dieser Zusammenhang wird als Pegelschere bezeichnet. Beim Menschen erzeugt das Verhältnis  $L_1 = 0.4 L_2 + 39 \text{ dB SPL}$  die DPOAE mit dem größten Schalldruckpegel (Janssen 1995, Whitehead 1995, Kummer 2000).

Zur Messung der DPOAE wird eine Sonde in dem von Zerumen gereinigten Gehörgang platziert. Diese enthält zwei Lautsprecher zur Abgabe der beiden Stimulustöne und ein Mikrophon zur Aufnahme der DPOAE. Mittels eines Schaumgummis wird die Sonde im Gehörgang abgedichtet, so dass auch ohne Schallschutzkabine gute Untersuchungsbedingungen erreicht werden können (Kemp, 2002). Die Ergebnisse werden üblicherweise als Funktion der DPOAE-Pegel in dB gegen die Frequenz (DP-Gramm) dargestellt. Zeichnet man die von Stimulustönen ansteigender Input-Pegel generierten DPOAE auf (DPOAE-Wachstumskurven), lassen sich zudem Hörverluste besser quantifizieren und auch passagere Schallleitungsstörungen erkennen (Janssen 2005).

### **1.3 Derzeitige Anwendungsbereiche**

Vorteile der OAE sind ihre Objektivität sowie ihre einfache und kostengünstige Durchführung. Zudem handelt es sich um das einzige gängige Verfahren zur direkten Erfassung der cochleären Funktion. Hieraus ergeben sich verschiedene Indikationen.

#### **1.3.1 Neugeborenencreening**

Die häufigste Anwendung erfahren OAE im Rahmen des Neugeborenencreenings. Ziel ist die möglichst frühzeitige Hörgerätversorgung von Kindern mit Hörstörung. Seit 2009 ist das Neugeborenencreening eine Regelleistung der gesetzlichen Krankenversicherung in der Bundesrepublik Deutschland. Als Methoden stehen hier die evoked response audiometry (ERA) und die Messung der OAE zur Verfügung (Hoth, 2009). Vorteil der Messung der OAE ist die einfache Durchführung. Allerdings wird methodisch bedingt nicht die Funktionsfähigkeit des retrocochleären Anteils der

Verarbeitung von akustischen Reizen geprüft. So können trotz normaler OAE schwere Störungen im retrocochleären Bereich vorliegen (Psarommatis 1997). Diese sind jedoch von untergeordneter Bedeutung, da sie in einem normalen Kollektiv sehr selten sind. Liegen jedoch Risikofaktoren für eine retrocochleäre Hörstörung vor, muss eine ergänzende Diagnostik der retrocochleären Hörfunktion erfolgen. Aufgrund der Übertragung der OAE aus der Cochlea über das Mittelohr in den äußeren Gehörgang beeinflussen zudem auch Schallleitungsstörungen die Nachweisbarkeit von OAE. Diese sind gerade bei Neugeborenen aufgrund von Debris im Gehörgang und Paukenergüssen relativ häufig und müssen klinisch sowie mittels weiterer audiometrischer Verfahren wie der Impedanzmessung differenziert werden.

Ein weiterer Bereich, in dem die Objektivität der OAE-Diagnostik genutzt wird, ist bei Verdacht auf eine Aggravation oder Simulation, z.B. in Versicherungsfragen.

### **1.3.2 Topodiagnostik von Hörstörungen**

Da die OAE das einzige gängige audiometrische Verfahren zur direkten Erfassung der cochleären Funktion sind, kommt ihnen große Bedeutung bei der Topodiagnostik von Hörstörungen zu. Bei audiometrisch reinen Schallempfindungsschwerhörigkeiten kann mittels OAE zwischen cochleären und retrocochleären Schädigungen unterschieden werden. Bei nicht auslösbaren OAE ist von einer cochleären Schädigung auszugehen. Sollten sich OAE evozieren lassen, muss eine retrocochleäre Hörstörung vermutet werden, welche dann mittels ERA bewiesen werden kann.

Ebenfalls angewendet werden OAE zum drug-monitoring bei Medikamenten, deren Ototoxizität teilweise auf einer cochleären Schädigung beruht wie z.B. bei Chemotherapeutika.

Einschränkend muss allerdings gesagt werden, dass mittels OAE bei allen Anwendungen nur ein Teilbereich der cochleären Funktion erfasst werden kann. Aussagen über die deutlich selteneren Störungen der Funktionsfähigkeit der Inneren Haarzellen können nicht getätigt werden. In Versuchen, in denen die Inneren Haarzellen selektiv ausgeschaltet wurden, zeigten sich keine Veränderungen der DPOAE (Trautwein 1996).

## **1.4 Potentielle Anwendungsbereiche**

Da es sich bei der OAE-Messung um ein schnelles, kostengünstiges, zuverlässiges und nicht-invasives Verfahren handelt, sind in den letzten Jahren vermehrt mögliche weitere Anwendungsbereiche untersucht worden.

### **1.4.1 Indirekte Hirndruckmessung**

Großes Potential besteht möglicherweise in der nicht-invasiven Abschätzung des intrakraniellen Druckes (intracranial pressure, ICP). Da der ICP in der klinischen Routine nach wie vor nur durch die invasive und komplikationsbehaftete Messung mittels epiduraler, subduraler, parenchymatöser oder ventrikulärer Sonde erfasst werden kann (Moskopp 2005, Steiner 2006), wäre ein einfaches und nicht-invasives Verfahren von großer klinischer Bedeutung (Czosnyka 2004). Grundlage für die theoretische Anwendbarkeit audiometrischer Verfahren zur ICP-Messung ist die Verbindung der Perilymphe mit dem Subarachnoidalraum über den Aquaeductus cochleae (Gopen 1997). Steigt der ICP führt dies über die Perilymphe zu einer Verschiebung der Stapesfußplatte nach lateral. Hierdurch kommt es zu einer Versteifung des Ligamentum anulare stapediale mit folgender erhöhter Impedanz des Mittelohres.

Bereits in den 1960er Jahren wurden Studien zur Veränderung der Elektrocochleographie (Allen 1962; Feldman 1968) und der Impedanzmessung (Klockhoff 1966) bei erhöhtem ICP durchgeführt. 1989 versuchte Reid die Analyse des tympanic membrane displacement mit dem ICP in Korrelation zu setzen (Reid 1989). Jedoch konnte erst Büki 1996 erstmals zeigen, dass ein Anstieg des ICP zu korrelierend abnehmenden OAE-Pegeln im Niederfrequenzbereich von 0,75 bis 1,5 KHz führt (Büki, 1996). In mehreren Studien konnte dies in der Folge bestätigt werden (u.a. Frank 2000, Voss 2006). Konsistent war in allen Studien, dass sich in den anderen Frequenzbereichen keine relevanten Veränderungen zeigten.

Da OAE wie bereits oben erwähnt große interindividuelle Unterschiede zeigen, scheint eine Messung des absoluten ICP wenig Erfolg versprechend. In den oben erwähnten Studien wurden bei Patienten mit gleichzeitiger invasiver ICP-Messung jedoch auch quantitative Zusammenhänge zwischen steigendem ICP und abnehmenden OAE-Pegeln gefunden. Ein ICP-Monitoring mittels wiederholter OAE-

Messungen könnte somit durchaus realistisch sein. Dies könnte bei Patienten, bei denen ein ICP-Anstieg zu befürchten ist wie z.B. Patienten auf neurologischen und neurochirurgischen Intensivstationen, Patienten mit Pseudotumor cerebri oder Hirntumorpatienten durchgeführt werden. Auch bei der Früherkennung eines Höhenhirnödems könnte ein OAE-Monitoring wichtige Hinweise liefern (Mees 2003, Olzowy 2008).

Allerdings muss berücksichtigt werden, dass zur Unterscheidung von ICP-assoziierten OAE-Veränderungen und solchen anderer Ursache zunächst weitere Einflussfaktoren untersucht werden müssen. So ist bekannt, dass Hypoxie, die insbesondere bei Patienten mit Höhenhirnödem und teilweise auch bei Intensivpatienten eine wichtige Rolle spielt, zu OAE-Veränderungen führt (Rebillard 1992, Freeman 1995, Sawada 2001). Über eine systemische Hypoxie hinaus ist auch eine lokale cochleäre Hypoxie aufgrund der ICP-Erhöhung in Betracht zu ziehen. Der cerebrale Perfusionsdruck (CPP) hängt vom arteriellen Mitteldruck (MAP) und dem Hirndruck nach der Formel  $CPP = MAP - ICP$  ab. Moderate Hirndrucksteigerungen können zwar über die cerebrale Autoregulation kompensiert werden, sind jedoch deren Grenzen erreicht, nimmt der cerebrale Blutfluss ab (Klinke, Silbernagl 2003). Ähnlich verhält es sich mit dem cochleären Perfusionsdruck, der vom Perilymphdruck und vom MAP abhängt (Lawrence 1977). Steigt nun der Perilymphdruck mit dem ICP an, können eine cochleäre Minderdurchblutung und dadurch ebenfalls eine Hypoxie resultieren.

#### **1.4.2 Hypoxie als mögliche Hörsturzursache**

Beim akuten idiopathischen sensorineuralen Hörverlust (Hörsturz) handelt es sich um einen akuten, fast immer einseitig auftretenden, unterschiedliche Frequenzen betreffenden sensorineuralen Hörverlust unklarer Ätiologie. Eine cochleäre Hypoxie als Ursache von zumindest einem Teil der Fälle mit Hörsturz wird immer wieder diskutiert (Merchant 2005, Mazurek 2006, Kuhn 2011). So konnte Nagahara 1983 mittels polarographischer Sauerstoffbestimmung bei einem Teil der Patienten mit plötzlichem Hörverlust einen reduzierten perilymphatischen Sauerstoffgehalt nachweisen (Nagahara 1983). Schweinfurth wies nach selektiver Embolisation der cochleären Blutversorgung ähnliche DPOAE-Veränderungen wie in Patienten mit Hörsturz nach (Schweinfurth, 2000). Merchant fand allerdings 2005 in pathologischen

Untersuchungen von 17 von einem Hörsturz betroffenen Cochleae post mortem keine ischämie-typischen Veränderungen bei Hörsturzpatienten. Ebenso spricht die häufige Spontanremission gegen eine ischämische Genese. Hier ist jedoch eine Studie von Hoth von 2005 zu erwähnen, in der in der Gruppe mit initial leisen OAE-Pegeln nur eine geringe Anzahl der Studienteilnehmer die sonst häufige Remission zeigte (Hoth 2005). So könnten OAE neben dem Einsatz in der Verlaufsbeurteilung auch als frühzeitiges Prognosetool verwendet werden.

## **1.5 Fragestellung der vorliegenden Dissertation**

Wie in den vorhergehenden Abschnitten aufgeführt, werden zurzeit vielversprechende Anstrengungen unternommen, mittels der einfach durchzuführenden OAE-Messung invasive Tests ersetzen zu können sowie Einblicke in die Funktion der Cochlea zu gewinnen. Es existieren jedoch zahlreiche Störfaktoren wie u.a. Veränderungen der Serumosmolarität (Suckfüll 1999), ototoxische Medikamente (Cazals 2000, Mills 1994, Shi 1997, Wake 1996), Veränderungen der Druckverhältnisse in der Paukenhöhle (Plinkert 1994) oder Hypoxie (Rebillard 1992, Freeman 1995, Sawada 2001). Je detaillierter die DPOAE-Veränderungen durch Störfaktoren bekannt sind, desto eher kann deren Einfluss auf Messungen erkannt werden und desto genauer wird die Aussagekraft der DPOAE-Messung hinsichtlich der eigentlichen Fragestellung.

Ziel dieser Dissertation war es, ein Tiermodell zu etablieren, an dem DPOAE-Veränderungen unter unterschiedlichen Störeinflüssen untersucht werden können. Insbesondere sollten daran DPOAE-Veränderungen unter Hypoxieeinfluss analysiert werden.

## **2. Material und Methoden**

### **2.1 Versuchstiere**

Für zwei unterschiedliche Testreihen wurden insgesamt 18 männliche und weibliche Meerschweinchen (Firma Charles River Wiga, Sulzfeld, Deutschland) mit einem Gewicht zwischen 350g und 400g verwendet. Sie wurden in vollklimatisierten Räumen bei einer konstanten Temperatur von 23 °C, einer Luftfeuchtigkeit von 50-60 % unter einem natürlichen Tag-Nacht-Rhythmus im Walter-Brendel-Zentrum für Experimentelle Medizin der Ludwig-Maximilians-Universität (LMU) München gehalten. Die Tiere erhielten standardisiertes, pelletiertes Futter und Wasser ad libitum.

### **2.2 Durchführung der Versuche und Materialien**

Die Versuche wurden zwischen 2005 und 2007 im Walter-Brendel-Zentrum für Experimentelle Medizin der LMU München durchgeführt. Die Verwendung der Tiere und die Versuche erfolgten in Einklang mit den Tierschutzrichtlinien der LMU München und wurden von der Regierung von Oberbayern als zuständiger Behörde genehmigt (Reg-Nr. 209.1/211-2531-14/05).

#### **2.2.1 Narkose**

Für die Narkose wurde eine Kombination aus Midazolam, Medetomidin und Fentanyl verwendet. Nach Sedierung der Versuchstiere durch Äthergabe in einem luftdichten Kunststoffkasten wurden 1.0 mg/kg Midazolam, 0.2 mg/kg Medetomidin und 0.025 mg/kg Fentanyl intramuskulär injiziert. Zur Aufrechterhaltung der Narkose im Stadium der chirurgischen Toleranz war jeweils nach ca. 45 Minuten die erneute Gabe der halben Dosis nötig. Die Narkosetiefe wurde über Blutdruck, Herzfrequenz sowie den Zwischenzehenreflex gesteuert.

#### **2.2.2 Monitoring**

Zum hämodynamischen Monitoring wurde eine invasive Blutdruckmessung in der rechten A. femoralis angelegt. Hierfür erfolgte nach Rasur der rechten Leiste und

Lokalanästhesie mit 1% Xylocain ein ca. 1,5 cm langer Hautschnitt mit einem Skalpell (Feather disposable Scalpel No.10, Feather Safety Razer Co., Ltd, Osaka, Japan). Die A. femoralis wurde unter Sicht durch ein Operationsmikroskop (Carl Zeiss, Stemi DV4 Spot) freipräpariert und anschließend mit einer Gefäßschere quer zum Gefäßverlauf eröffnet. Nach Kanülierung mit einem heparinisierten Polyethylenschlauch (Portex Polyethylene Tubing, innerer Durchmesser: 0,28 mm, äußerer Durchmesser: 0,61 mm, Smiths Medical International Ltd, London, England) wurde dieser mit einem um das Gefäß geschlungenen Faden fixiert und eine Hautnaht angelegt (Nahtmaterial Ethicon, Perma-Hand Seide 4-0).

Blutdruck und Herzfrequenz wurden über einen Druckabnehmer kontinuierlich gemessen und über AD-Wandler (Kent Scientific Corporation, Transducer-Pre-Amplifier), Signalanschlussbox (Bedo Elektronik GmbH, SAE 16 SE) und PCI-Karte (AD Link, Messkarte PCI 9112) digitalisiert und auf einem handelsüblichen PC mit der Software DASY Lab (National Instruments Ireland Resources Ltd.) aufgezeichnet und angezeigt.

Zum Aufrechterhalten der Normothermie wurden die Versuchstiere auf einer Wärmedecke (Harvard Apparatus) platziert. Diese war mit einer kontinuierlichen Messung der rektalen Körpertemperatur rückgekoppelt und wurde mit einem Zielwert von 38° gesteuert.

### **2.2.3 Validierung der Pulsoxymetrie mittels Blutgasanalyse**

Zur Überwachung der bei den Versuchstieren erzeugten Hypoxämie wurden über einen am linken Hinterlauf der Tiere befestigten Sensor die Sauerstoffsättigung (SaO<sub>2</sub>) und die Herzfrequenz kontinuierlich pulsoxymetrisch gemessen (NONIN 8500 AV). In einer Tabelle wurde minütlich der aktuelle Wert eingetragen und den entsprechenden DPOAE-Daten zugeordnet.

Da zur Quantifizierung der Hypoxämie eine ausreichende Genauigkeit der pulsoxymetrischen Messung nötig war, erfolgte die Validierung der Messgenauigkeit mittels eines Vergleichs der Sauerstoffsättigung in der Pulsoxymetrie und in der Blutgasanalyse. Hierfür wurden bei 7 Tieren über den in der A. femoralis liegenden Katheter insgesamt 25 Blutproben entnommen (12 Proben unter Normoxie, 13 Proben unter Hypoxie) und in einem Blutgasanalysegerät (Chiron 860, Bayer)



ausgewertet. Die entsprechenden Werte der Pulsoxymetrie wurden notiert und anschließend mit den Ergebnissen der Blutgasanalyse verglichen.

#### **2.2.4 Erzeugung und Überwachung der Hypoxie**

Den spontan atmenden Tieren wurde über eine über Mund und Nase gestülpte Kammer ein Gemisch aus Sauerstoff ( $O_2$ ) und Distickstoffmonoxid ( $N_2O$ ) angeboten. Für die Kammer wurde von einer handelsüblichen 20 ml Spritze der vordere Teil abgetrennt. Zur besseren Abdichtung wurde am Rand der Öffnung ein Schaumstoff angebracht. Die Zufuhr des Gasgemischs erfolgte über eine in die Seite der Kammer gebohrte Öffnung. Durch einen ausreichenden Fluss des Gasgemischs (5 L/min.) und eine an einer weiteren seitlichen Öffnung angebrachte Absaugung konnte der Sauerstoffgehalt in der Kammer kontinuierlich auf dem beabsichtigten Wert gehalten und eine  $CO_2$ -Retention vermieden werden. Die Zumischung der Gase wurde über zwei Flowmeter gesteuert. Die Einstellung der inspiratorischen Sauerstoffkonzentration ( $FiO_2$ ) erfolgte nach einem Sauerstoffmessgerät (Greisinger electronic), dessen Sensor in das zum Versuchstier führende Schlauchsystem integriert war. Für den verzögerungsfreien Beginn der Hypoxiephasen wurde ein System mit zwei separaten Flowmetern auf den beabsichtigten Sauerstoffanteil eingestellt und beim Phasenwechsel gegen das andere System getauscht.

#### **2.2.5 DPOAE-Messeinheit und verwendete Parameter**

Nach Narkosebeginn wurde im Gehörgang eine ER-10 Sonde (Etymotic Research) mit handelsüblichen, jedoch leicht modifizierten Sondenaufsätzen (Etymotic Research) platziert. Die Aufsätze bestehen aus einem zentralen Kunststoffschlauch mit 3 Gängen für die zwei Lautsprecher und das Mikrofon. Zur besseren Abdichtung ist dieser von einem Schaumstoff umgeben (siehe Abbildung 3). Nach Entfernen des Schaumstoffs ließ sich der verbliebene Schlauch problemlos dem Gehörgang der Versuchstiere anpassen.

Nach Reinigung des Gehörgangs mittels einer Kürette unter mikroskopischer Sicht (Carl Zeiss, Stemi DV4 Spot) wurden in beiden Ohren eine Kalibrierung und jeweils eine kurze DPOAE-Testreihe durchgeführt. Bei der Kalibrierung wird der Sondensitz auf Dichtigkeit geprüft und die für die Erzeugung des definierten Stimuluspegels

nötige Lautsprecherleistung dem Volumen des Gehörgangs entsprechend angepasst.

Anschließend wurde das Ohr mit dem besseren Sondensitz und dem größeren Signal-Rausch-Verhältnis für die Versuchsdurchführung ausgewählt. Es erfolgte eine Parazentese mit einer Kanüle (Braun Sterican; Durchmesser 0,4 mm). Der resultierende Trommelfelldefekt wurde mittels Mikroskop kontrolliert. Ein Hämatotympanon wurde dabei ebenfalls ausgeschlossen. Um einen sicheren Sitz zu gewährleisten und Störeinflüsse durch Umgebungsgeräusche zu minimieren wurde anschließend handelsüblicher Acrykleber um den Sondenaufsatz appliziert. Die Versuche wurden in einem ruhigen Laborraum durchgeführt.

Die Sonde wurde mittels eines Adapters und einer PCMCIA-Card an ein handelsübliches Notebook (Dell) angeschlossen (siehe Abbildung 3). Für jede Einzelmessung wurde der DPOAE-Pegel, Frequenz und Pegel der Stimulustöne sowie der Pegel des Hintergrundrauschens mit der Software DP2000 (Mimosa Acoustics) aufgezeichnet und online graphisch dargestellt (siehe Abbildung 4). Die spätere Weiterverarbeitung der Daten erfolgte offline mittels Access 2000 und Excel 2000 (Microsoft Office).

Zur Optimierung der DPOAE-Generierung wurde mit  $L_1 = 0.46 L_2 + 41 \text{ dB SPL}$  eine für das Meerschweinchen modifizierte Pegelschere benutzt (Michaelis 2004). Aufgezeichnet und analysiert wurde der kubische Differenzton  $f_{dp} = 2f_1 - f_2$ . Das Verhältnis der Frequenzen der beiden Stimulustöne wurde mit  $f_2/f_1 = 1,2$  gewählt. Als ausreichendes Signal-Rausch-Verhältnis wurde ein Wert  $> 6 \text{ dB}$  gewählt.

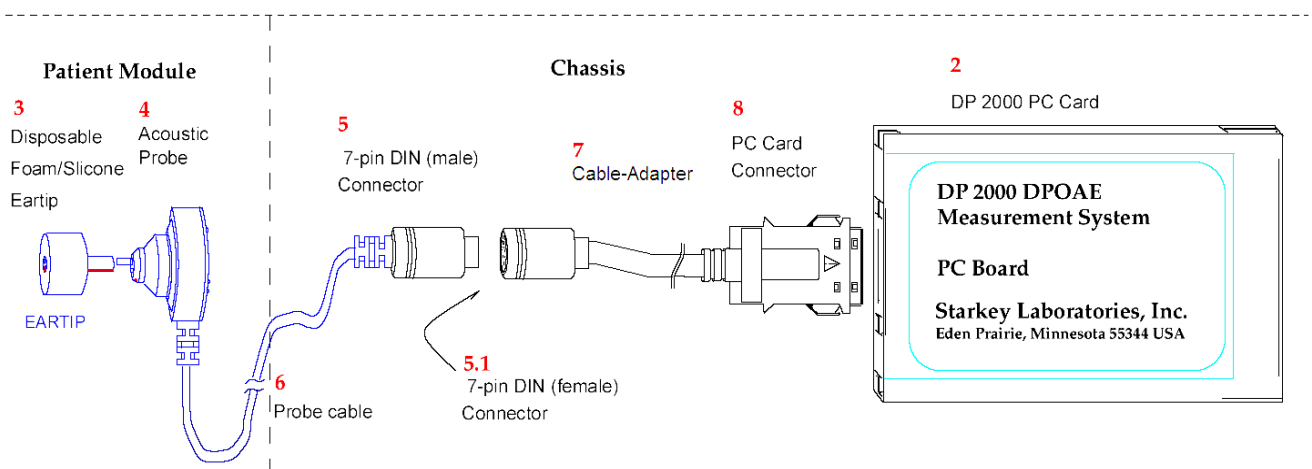


Abb. 3: Aufbau der DPOAE-Messsonde (modifiziert nach User's Manual, DP2000 TM, Distortion Product Otoacoustic Emission (DPOAE) Measurement System)

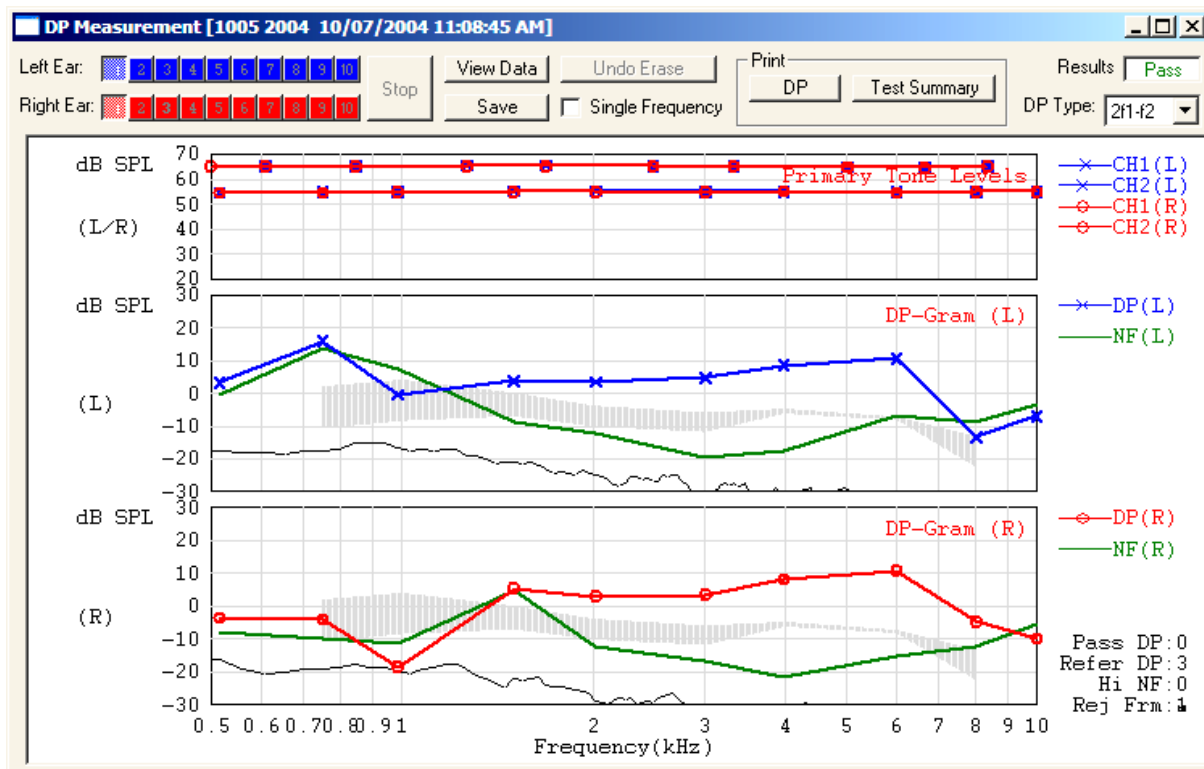


Abb. 4: Ansicht des Fensters der DPOAE-Darstellung mit der DP2000 Software.

Obere Graphik: Pegel der Stimulustöne

Mittlere und untere Graphik: Pegel der DPOAE (in rot oder blau) und Pegel des Hintergrundrauschens (grün) in dB auf der Ordinatenachse gegen die Frequenz von  $f_2$  auf der Abszissenachse aufgetragen (DP-Gram). (User's Manual, DP2000 TM, Distortion Product Otoacoustic Emission (DPOAE) Measurement System)

## 2.3 Versuchsprotokolle

Bereits in den Vorversuchen zeigte sich unter Hypoxie eine deutliche Instabilität der DPOAE-Pegel mit teilweise extremen Pegelschwankungen von über 10 dB innerhalb weniger Sekunden. Methodisch bedingt kann immer nur ein einzelnes DPOAE-Signal mit spezifischer Frequenz und Schalldruckpegel gleichzeitig bestimmt werden. Da hierfür je nach Einstellung ca. vier Sekunden benötigt werden, ergäben sich für Messungen mit vielen verschiedenen Einzelwerten große Zeitabstände zwischen den einzelnen Messpunkten. So lägen zwischen zwei Messpunkten mit Stimulation in der gleichen Frequenz und dem gleichen Schalldruckpegel in DPOAE-Wachstumsfunktionen mit fünf verschiedenen Frequenzen und fünf Input/Output-Paaren ca. 100 Sekunden. Es könnte keine sinnvolle Aussage über DPOAE-Veränderungen getroffen werden.

Um sowohl die Zeitabstände zwischen den vergleichbaren Messpunkten gering halten als auch etwaige charakteristische Frequenzmuster aufdecken zu können, führten wir zwei getrennte Versuchsreihen durch.

### **2.3.1 Kontinuierliche Einzelfrequenzmessung**

Ziel der ersten Versuchsreihe war es, durch engmaschige Stimulation mit einem einzelnen Frequenzpaar den genauen zeitlichen Verlauf der DPOAE-Veränderungen unter Hypoxie zu beobachten. Hierfür wählten wir als Frequenz für  $f_2$  16 000 Hz und für  $f_1$  13333 Hz, entsprechend dem Frequenzverhältnis  $f_2/f_1 = 1,2$ . Dieses Frequenzpaar hatte in den Vorversuchen zuverlässig DPOAE mit lauten und konstanten Pegeln sowie einem guten Signal-Rausch-Verhältnis erzeugt. Als Stimuluspegel wählten wir entsprechend der oben erwähnten Pegelschere  $L_1 = 65$  dB und  $L_2 = 55$  dB. Um eine gute Zeitauflösung bei trotzdem ausreichender Messgenauigkeit zu erhalten, wählten wir eine Einzelmessdauer von ca. 4 Sekunden. Zu Beginn wurden die DPOAE bei Gabe eines  $N_2O/O_2$ -Gemisches mit einer  $FiO_2$  von 21% über 10 Minuten aufgezeichnet. Anschließend wurde die  $FiO_2$  für eine Phase von 20 Minuten bis 2 Stunden auf 12 bis 13% reduziert. Bestanden nach einer Hypoxiephase konstante Blutdruckwerte und weiterhin nachweisbare DPOAE-Pegel wurde nach mindestens 30 minütiger Normoxie eine zweite Hypoxiephase angeschlossen.

### **2.3.2 Kontinuierlich aufgezeichnetes DP-Gram**

Ziel der zweiten Versuchsreihe war es, die spezifischen DPOAE-Veränderungen bei verschiedenen Stimulusfrequenzen zu untersuchen und so charakteristische Frequenzmuster aufdecken zu können. Um ein breites Frequenzspektrum abzudecken, wurden als  $f_2$  2 kHz, 4 kHz, 8 kHz, 12 kHz und 16 kHz gewählt.  $f_1$  berechnete sich entsprechend der Formel  $f_2/f_1 = 1,2$ . Als Einzelmessdauer wurden wiederum 4 Sekunden gewählt. Die Abstände zwischen zwei einzelnen Messpunkten der gleichen Frequenz betrugen somit ca. 20 Sekunden.

Anfangs wurde den Versuchstieren ein  $N_2O/O_2$ -Gemisch mit einer  $FiO_2$  von 30% angeboten und die DPOAE über 10 Minuten aufgezeichnet. Anschließend wurde die  $FiO_2$  reduziert. Da unter einer  $FiO_2$  von 12% zwei Tiere aus der ersten Versuchsreihe

eine Schnappatmung entwickelt hatten, wurde nun eine  $\text{FiO}_2$  von 13% gewählt. Die Erhöhung der  $\text{FiO}_2$  in den prä- und posthypoxischen Phasen von 21% in der ersten Versuchsreihe auf nun 30% erfolgte, um bei den Versuchstieren unabhängig von einem interindividuell unterschiedlichen Sauerstoffbedarf konstant ausreichend hohe Sättigungswerte zu erzielen.

Bei acht Tieren betrug die Dauer der Hypoxie 20 Minuten, bei einem Tier 70 Minuten. Im Anschluss wurde die  $\text{FiO}_2$  für mindestens 30 Minuten wieder auf 30% erhöht. Bestanden wiederum konstante DPOAE-Pegel und lagen hämodynamisch stabile Kreislaufverhältnisse vor, erfolgte eine erneute 20 minütige Hypoxiephase.

## **2.4. Statistik**

In die Analyse der Daten wurden nur DPOAE-Werte eingeschlossen, die einen Signal-Rausch-Abstand von mehr als 6 dB hatten. Für jedes Tier wurden zunächst die Messergebnisse in eine prähypoxische, eine hypoxische und eine posthypoxische Phase unterteilt und für jede Phase der Mittelwert (MW) und die Standardabweichung (SD) berechnet. Damit die Standardabweichung unter Hypoxie die Schwankungen der DPOAE-Pegel korrekt wiedergibt und nicht überschätzt, wurde der initiale Pegelabfall nicht in die Berechnung eingeschlossen. Hierfür wurden die Werte, bevor die DPOAE-Pegel erstmals den Pegelmittelwert unter Hypoxie erreichten, bei der Berechnung der Standardabweichung ausgeschlossen. Der Mittelwert der DPOAE-Pegel und der Sauerstoffsättigung unter Hypoxie wurde dagegen aus allen Werten unter Hypoxie berechnet. Für die Berechnung von MW und SD der DPOAE in der posthypoxischen Phase wurden alle Werte ab fünf Minuten nach Beendigung der Hypoxie eingeschlossen. So konnte eine Verfälschung durch bereits von Rebillard beschriebene posthypoxische DPOAE-Veränderungen vermieden werden (Rebillard 1992).

### **2.4.1. Kontinuierliche Einzelfrequenzmessung**

Die Daten wurden nur in die Auswertung eingeschlossen, wenn die SD der DPOAE-Pegel unter Normoxie und nach Abklingen post-hypoxischer Pegelveränderungen 1 dB nicht überschritt. Zudem musste der Mittelwert der DPOAE-Pegel nach Hypoxie

und nach Abklingen post-hypoxischer Pegelveränderungen wieder in einem Bereich von  $\pm 1$  dB um den Mittelwert der Pegel vor Hypoxie liegen.

Für den Zusammenhang der Mittelwerte der DPOAE-Pegel mit der Sauerstoffsättigung wurde für die Hypoxiephasen der Korrelationskoeffizient nach Pearson berechnet. DPOAE-Pegelveränderungen wurden als signifikant angesehen, wenn sie um 3 Standardabweichungen von dem prähypoxischen Mittelwert abwichen.

#### **2.4.2 Kontinuierlich aufgezeichnetes DP-Gram**

In der zweiten Versuchsreihe wurde eine Standardabweichung unter Normoxie nach Abklingen post-hypoxischer Veränderungen von maximal 2,5 dB toleriert. Die im Vergleich zur ersten Versuchsreihe größere tolerierte Standardabweichung wurde gewählt, da bei den niedrigeren Frequenzen instabilere DPOAE-Pegel zu erwarten waren.

Alle Berechnungen wurden für jedes Stimulusfrequenzpaar durchgeführt. Mittels Kruskal-Wallis-Test und der Dunn's method wurden die Daten der einzelnen Stimulusfrequenzpaare miteinander verglichen. Als statistisch signifikanter Unterschied wurde ein Signifikanzniveau  $p$  von kleiner als 0,05 angesehen.

## **3. Ergebnisse**

### **3.1 Validierung der Pulsoxymetrie**

Die mittlere Differenz zwischen der mit Pulsoxymetrie und Blutgasanalyse gemessenen Sauerstoffsättigung aller 25 Proben lag bei 2,72, die Standardabweichung bei 2,41 Prozentpunkten. Die maximale Abweichung betrug 8 Prozentpunkte. In vier Proben bestanden deutliche Abweichungen von 6 bis 8 Prozentpunkten. Hier fiel jedoch auf, dass diese zu einem Zeitpunkt mit deutlich fluktuierenden Sättigungswerten abgenommen wurden.

Der Kohlenstoffdioxidpartialdruck ( $p\text{CO}_2$ ) lag zwischen 29 und 41 mmHg, der pH-Wert zwischen 7,41 und 7,52. Dies liegt in dem in der Literatur für Meerschweinchen beschriebenen Bereich (Sanchez-Aparicio 2009).

### **3.2 Kontinuierliche Einzelfrequenzmessung**

#### **3.2.1 Monitoring der Vitalwerte**

Es zeigten sich Herzfrequenzen zwischen 190 und 280 Schlägen/Minute. Die Blutdruckwerte wurden mit einem MAD zwischen 45 und 55 mmHg in einem Bereich gehalten, der den in der Literatur für narkotisierte Meerschweinchen beschriebenen Werten (Brown 1989, Heide 2003) entspricht. Die Körpertemperatur befand sich in einem Bereich von  $38^\circ \pm 0,2^\circ$ .

Bei allen 9 Versuchstieren lag die Standardabweichung vor Hypoxiebeginn unterhalb von 1 dB. Von den 13 Hypoxiephasen in den 9 Versuchstieren zeigten 6 Hypoxiephasen in 5 Tieren stabile posthypoxische DPOAE-Pegel, deren Mittelwert innerhalb von  $\pm 1$  dB um den prähypoxischen Mittelwert lagen und somit in die weitere Auswertung übernommen werden konnten. Bei zwei der aufgrund instabiler DPOAE-Pegel später ausgeschlossenen Tiere hatte sich unter Hypoxie eine Schnappatmung mit einer  $\text{SaO}_2$  unter 50% gezeigt.

Bei keinem der eingeschlossenen Tiere fiel eine Sauerstoffsättigung mit Werten unter 57% oder ein pathologisches Atemmuster auf. Die Sättigungswerte unter Hypoxie lagen zwischen 57% und 75%. Nach Beginn der Hypoxie erreichte die Sauerstoffsättigung innerhalb weniger Minuten den über die gesamte jeweilige Hypoxiephase berechneten Mittelwert und hielt sich dann konstant in diesem

Bereich. Nach Wiederbeginn der Normoxie erreichte die Sauerstoffsättigung meist bereits nach einer Minute normale Werte. In vier der eingeschlossenen Tiere betrug die Dauer der Hypoxiephasen 20 Minuten, in einem 120 Minuten.

### **3.2.2 DPOAE-Messungen**

Der mittlere Pegel des Hintergrundrauschens lag bei den in die weitere Analyse eingeschlossenen Tieren bei -10,18 dB, die Standardabweichung bei  $\pm 4,69$  dB. Der Anteil ungültiger DPOAE-Signale betrug 0,59%. Vor Beginn der Hypoxiephasen ließen sich stets DPOAE-Pegel mit nur leichten Schwankungen messen. Die Standardabweichung bei den einzelnen Tieren lag zwischen 0,12 und 0,52 dB. Bei vier Tieren ergaben sich unter Hypoxie signifikante Pegeländerungen (siehe Abbildungen 5-8), nicht jedoch bei einem Tier, dessen Sauerstoffsättigung im Mittel bei 75% lag und nicht unter 73% fiel (siehe Abbildung 9). Der auffälligste Aspekt unter Hypoxie war eine deutliche Instabilität der DPOAE-Pegel, die Standardabweichung lag mit Werten zwischen 0,78 und 6,76 dB deutlich über den Werten in Normoxie.

Mit Ausnahme des erwähnten Versuchstieres mit einer Sauerstoffsättigung größer 73% und fehlenden Pegelinstabilitäten zeigten die DPOAE-Pegel unter Hypoxie einen typischen Verlauf. Nach Hypoxiebeginn kam es in vier Hypoxiephasen kurzzeitig zu einem leichten, aber signifikanten Pegelanstieg (siehe Abbildungen 5,6 und 8). Anschließend fielen die DPOAE-Pegel unter das prähypoxische Niveau ab. Während der folgenden Instabilität bestanden in zwei Tieren vorübergehend DPOAE-Pegel, die bis zu 5 dB über dem prähypoxischen Niveau lagen (siehe Abbildungen 7 und 8). Es ergab sich weder in den kurzen Hypoxiephasen noch in der in einem Tier erzeugten langen Hypoxiephase ein Trend zu einer zunehmenden Stabilisierung. Nach Wiederbeginn der Normoxie zeigten die DPOAE-Pegel im Gegensatz zu den sich rasch normalisierenden Sättigungswerten einen teils massiven Einbruch (im Folgenden als Post-Hypoxieeffekt bezeichnet). Anschließend stiegen die Pegel in einem Zeitrahmen von ungefähr fünf Minuten auf das prähypoxische Niveau an. Zwei Versuchstiere zeigten vor dessen Erreichen kurzzeitig einen Pegelanstieg über das prähypoxische Niveau hinaus, in seiner Ausprägung dem Anstieg nach Hypoxiebeginn vergleichbar (siehe Abbildungen 5 und 8).



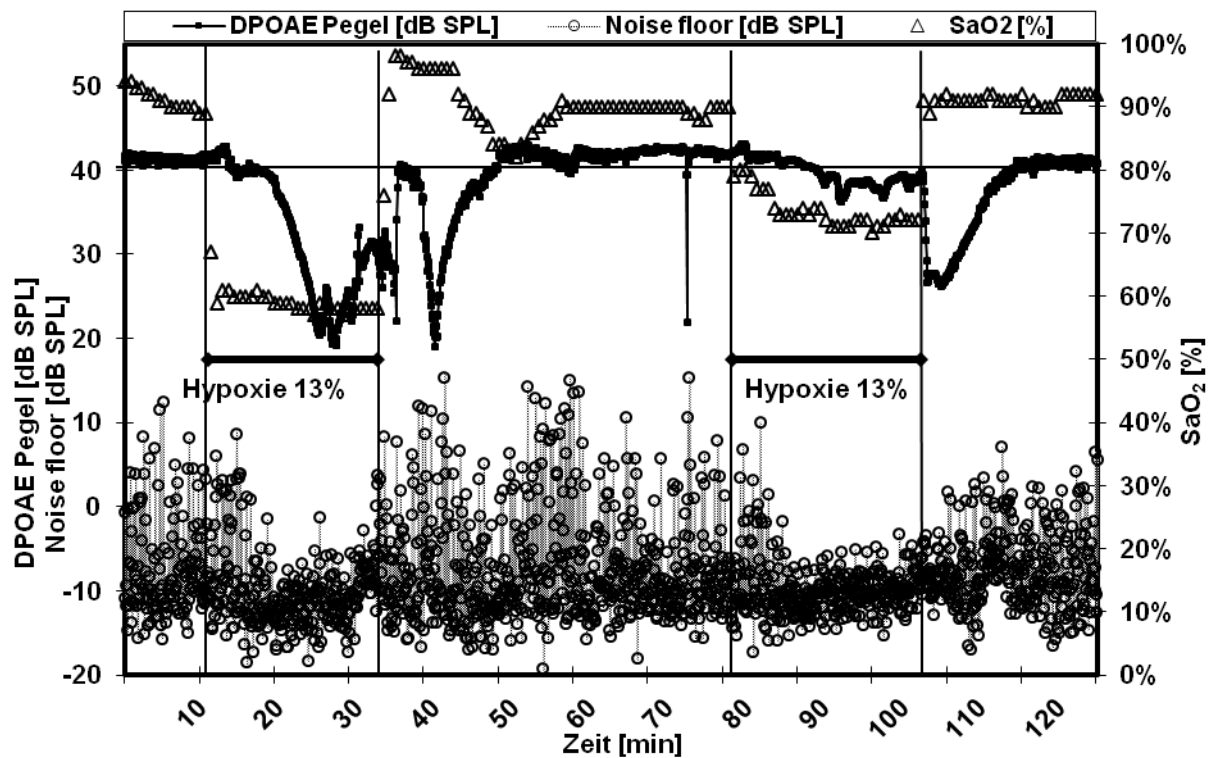


Abb. 5: DPOAE-Pegel, Noise floor und SaO<sub>2</sub> (alle Ordinatenachse) sind gegen die Zeit (Abszissenachse) aufgetragen. Beginn und Ende der Hypoxiephasen sind durch vertikale Linien und horizontale Balken markiert (hier Versuchstier mit zwei Hypoxiephasen).

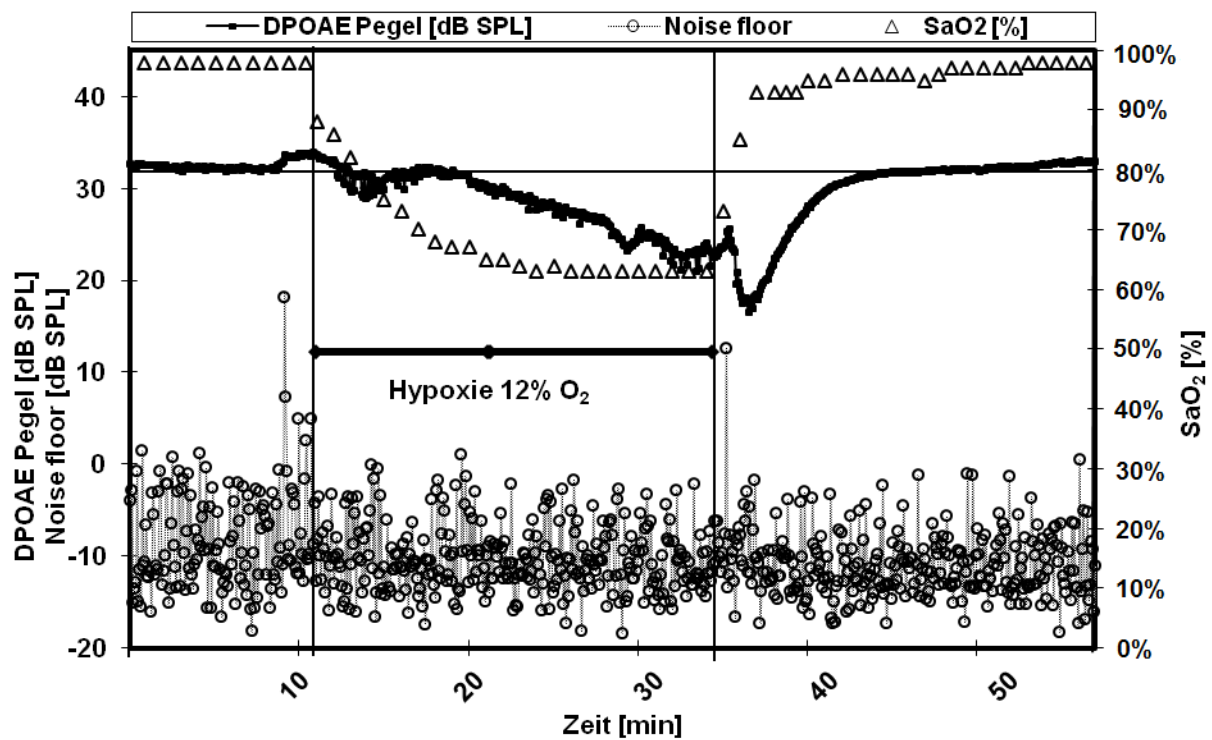


Abb. 6: Versuchstier 4

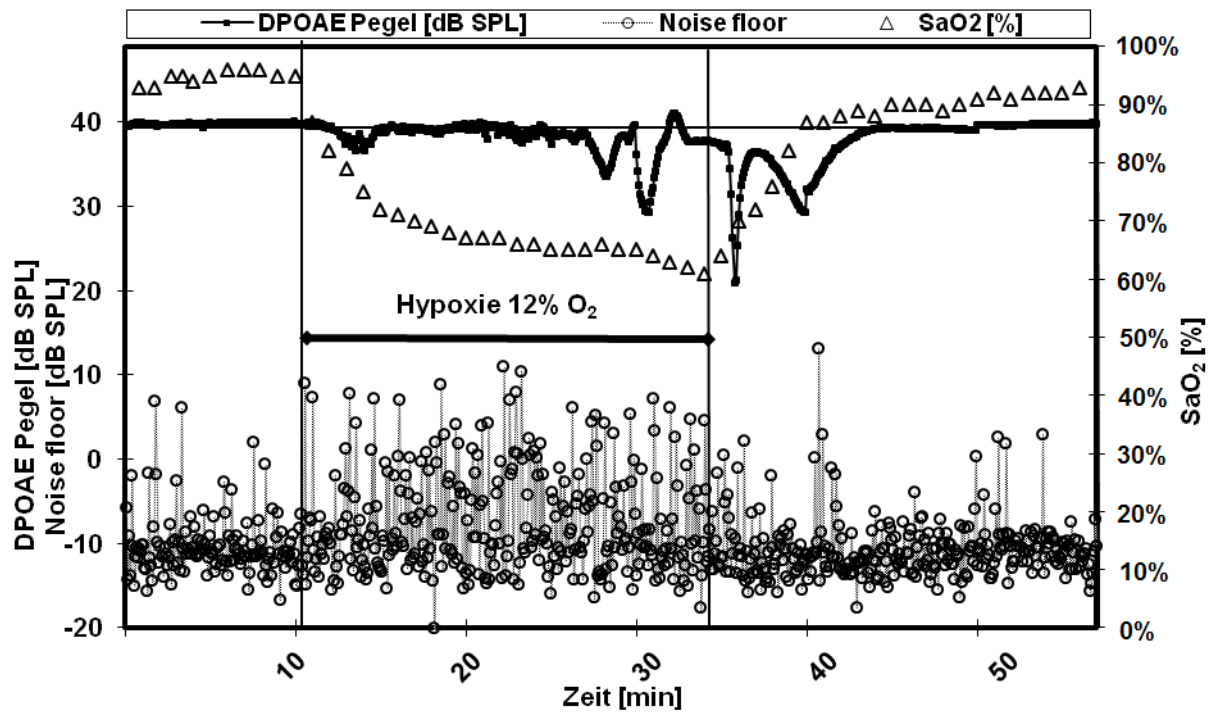


Abb. 7: Versuchstier 5

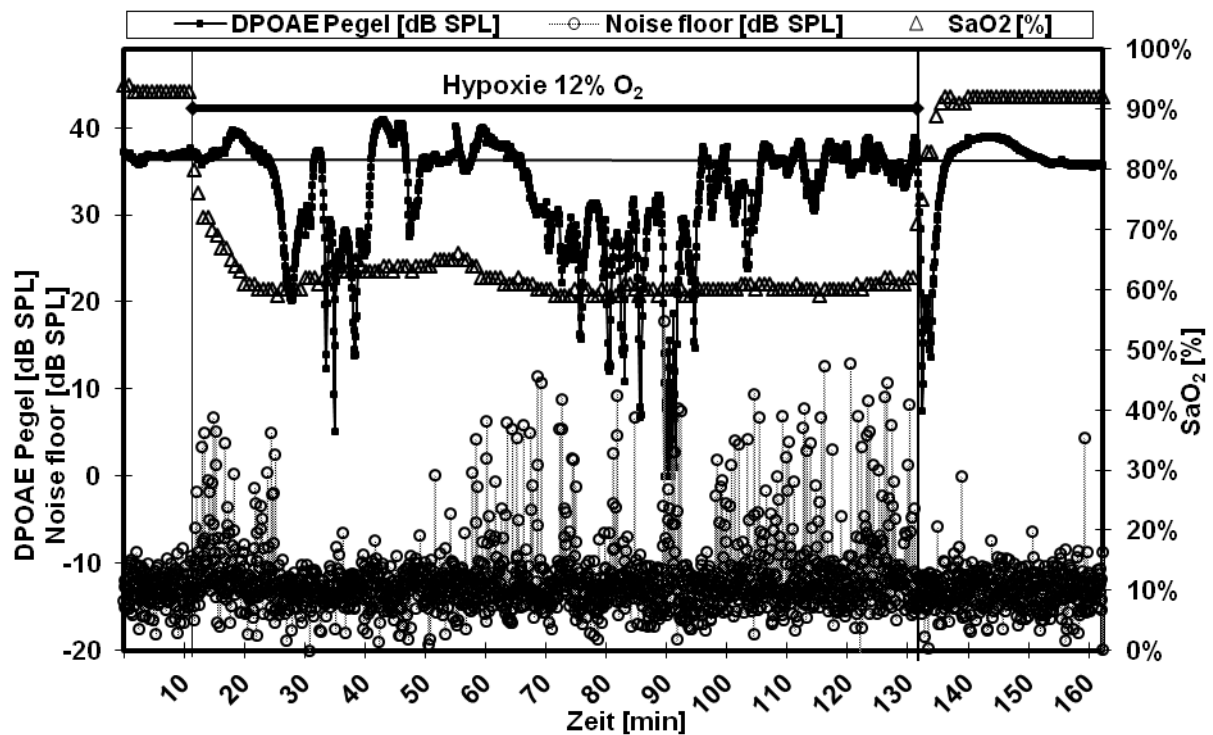


Abb. 8: Versuchstier mit Hypoxiephase über 120 Minuten. Auch mit zunehmender Zeit zeigt sich keine Stabilisierung der DPOAE-Pegel.

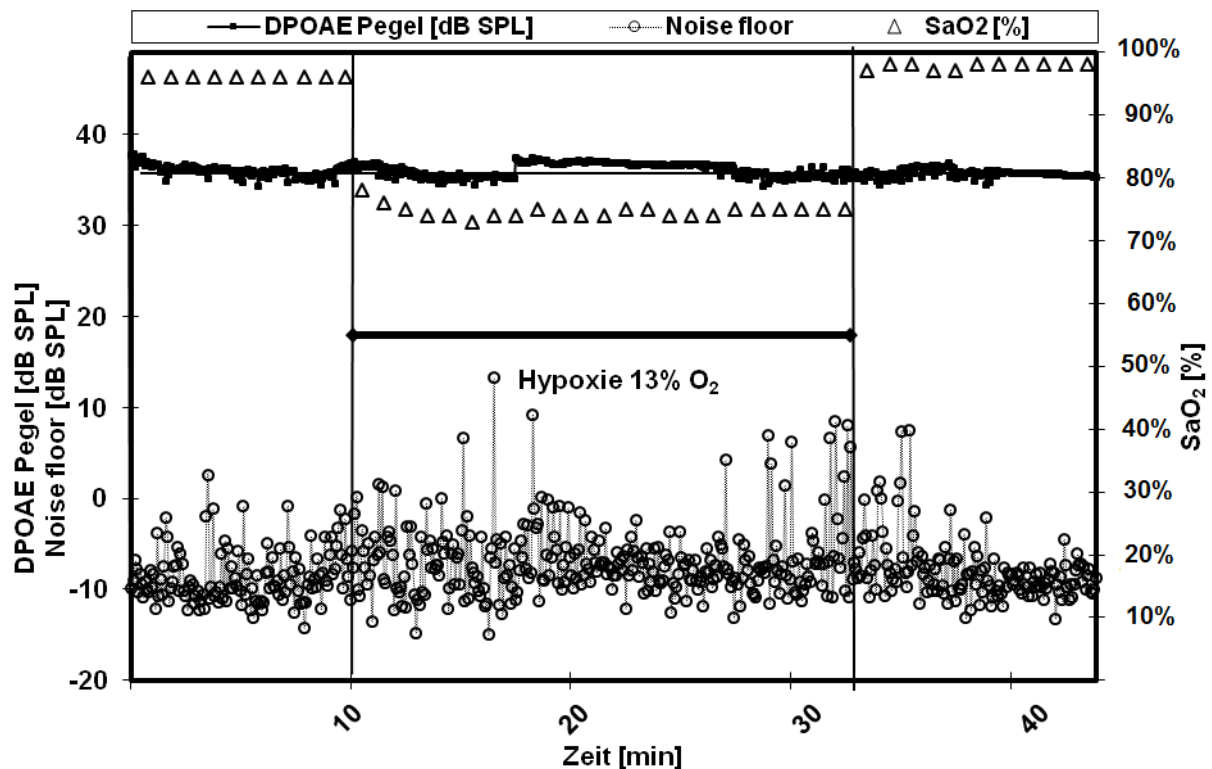


Abb. 9: Versuchstier mit einer SaO<sub>2</sub> stets > 73%, hierdurch kein Abfall der DPOAE-Pegel und anhaltend konstante DPOAE-Pegel

Die mittleren DPOAE-Pegel unter Hypoxie waren signifikant niedriger als unter Normoxie. Dabei bestand eine Korrelation zwischen dem Mittelwert des Pegelabfalls und dem Mittelwert der Sauerstoffsättigung der Hypoxiephase (Korrelationskoeffizient  $r = 0.90$ , Signifikanzwert  $p = 0.014$ , siehe Abbildung 10).

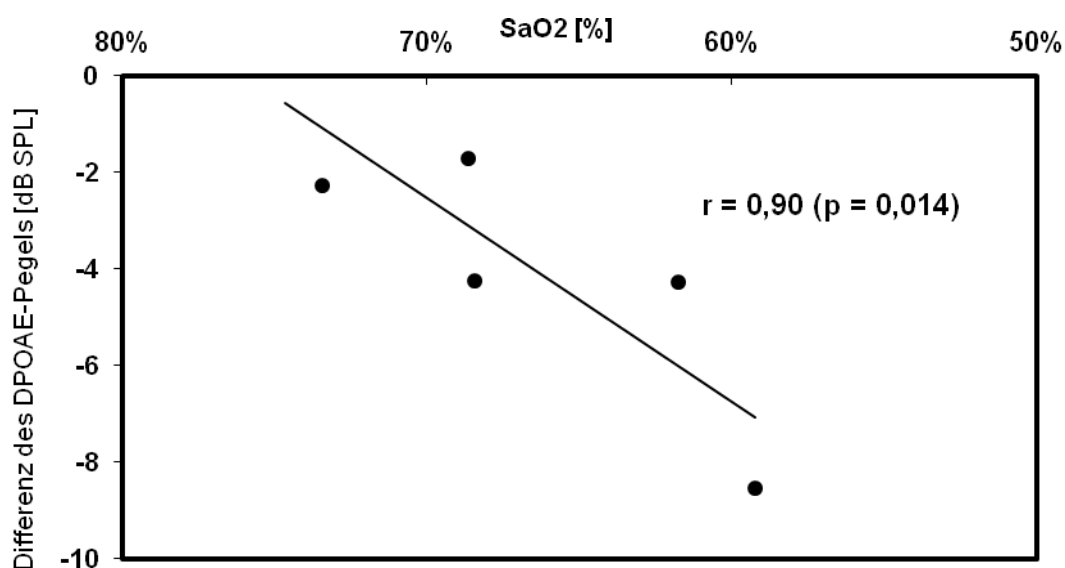


Abb. 10: Die Mittelwerte der DPOAE-Pegelveränderungen unter Hypoxie sind gegen die Mittelwerte der Sauerstoffsättigung aufgetragen. Der Korrelationskoeffizient  $r$  und der Signifikanzwert  $p$  sind angegeben.

### **3.3 Kontinuierlich aufgezeichnetes DP-Gram**

#### **3.4.1 Monitoring der Vitalwerte**

Die Herzfrequenzen in der zweiten Versuchsreihe lagen zwischen 177 und 290 Schlägen/Minute. Wie in der ersten Versuchsreihe wurden der MAD im angestrebten Bereich von 45 bis 55 mmHg und die Körpertemperatur bei  $38^{\circ} \pm 0,2^{\circ}$  gehalten.

In acht Tieren zeigten sich unter einer  $\text{FiO}_2$  von 30% stabile DPOAE-Pegel mit einer Standardabweichung kleiner als 2,5 dB. 14 Hypoxiephasen konnten in die weitere Auswertung übernommen werden. Von sechs Tieren konnten jeweils zwei 20 minütige Hypoxiephasen eingeschlossen werden. Bei einem Tier war es bei der Präparation der A. femoralis sowie im Versuchsverlauf zu einem größeren Blutverlust gekommen, hier konnte nur die erste ebenfalls 20 Minuten andauernde Hypoxiephase übernommen werden. In einem weiteren Tier wurde nur eine einzelne 70 minütige Hypoxiephase durchgeführt.

#### **3.4.2 DPOAE-Messungen**

Im Gegensatz zur Versuchsreihe mit kontinuierlicher Einzelfrequenzmessung wurden nun zu  $f_2 = 16$  kHz auch die Frequenzen  $f_2 = 2$  kHz, 4 kHz, 8 kHz und 12 kHz gemessen. Der Mittelwert des Pegels des Hintergrundrauschens lag bei  $-9,11$  dB mit einer Standardabweichung von  $\pm 7,75$  dB. Für die einzelnen Frequenzen ergaben sich deutliche Unterschiede. So betrug der Pegel des Hintergrundrauschens bei 16 kHz  $-11,41$  dB  $\pm 4,55$  dB, bei 12 kHz  $+2,56$  dB  $\pm 5,54$  dB, bei 8 kHz  $-7,62$  dB  $\pm 5,41$  dB, bei 4 kHz  $-15,58$  dB  $\pm 7,82$  dB und bei 2 kHz  $-10,07$  dB  $\pm 10,35$  dB [MW  $\pm$  SD].

Bei 2 kHz und schwächer ausgeprägt auch bei 4 kHz und 8 kHz ließen sich im Vergleich zu den höheren Frequenzen nur DPOAE mit niedrigeren Pegeln und somit auch kleinerem Signal-Rausch-Verhältnis generieren. Hieraus resultierte ein mit abnehmender Frequenz größerer möglicher Anteil an Störeinflüssen auf das DPOAE-Signal. Zudem erfüllten in diesen Frequenzen mehr DPOAE-Signale nicht das geforderte Signal-Rausch-Verhältnis von  $> 6$  dB. So lag der Anteil an ungültigen DPOAE-Signalen bei 16 kHz bei 0,14%, bei 12 kHz bei 0,05%, bei 8 kHz bei 0,99%, bei 4 kHz bei 1,00% und bei 2 kHz bereits bei 4,06%.

Bei 16 kHz zeigte sich erneut der bereits beschriebene charakteristische zeitliche Verlauf mit einer deutlichen Instabilität und einem Abfall der Mittelwerte der DPOAE-Pegel unter Hypoxie sowie einem erneuten, kurzzeitigen, teils massiven Pegelabfall

nach Reoxygenierung. Der kurzzeitige Pegelanstieg auf Werte oberhalb des bei einer  $\text{FiO}_2$  von 30% gemessenen Mittelwertes konnte ebenfalls bei einem Großteil der Tiere beobachtet werden. Ähnliche Verläufe wie bei 16 kHz ergaben sich bei 8 kHz und 4 kHz (siehe Abbildungen 11-16).

Bei 12 kHz und 2 kHz dagegen zeigte sich dieser Verlauf deutlich weniger ausgeprägt oder gar nicht. Der einzige stabil vorhandene Effekt der Hypoxie war eine Destabilisierung der DPOAE-Pegel. Diese war jedoch im Vergleich zu den anderen Frequenzen schwächer ausgeprägt (siehe Abbildungen 11-16).

Im Mittel für alle Hypoxiephasen belief sich die Zunahme der Standardabweichung unter Hypoxie lediglich auf 1,04 dB für 12 kHz und 1,15 dB für 2 kHz. Bei 16 kHz betrug die Zunahme dagegen 3,49 dB, bei 8 kHz 3,08 dB und bei 4 kHz 2,05 dB. Somit ergaben sich signifikante Frequenzunterschiede mit  $p < 0,05$  für 12 kHz vs. 16 und 12 vs. 8 kHz sowie für 2 kHz vs. 16 kHz (siehe Abbildung 17).

Die in der Versuchsreihe mit kontinuierlicher Einzelfrequenzmessung beobachtete Abnahme der Mittelwerte der DPOAE-Pegel ließ sich für die Frequenzen 16 kHz, 8 kHz und 4 kHz reproduzieren. Die Pegel bei 12 kHz und 2 kHz zeigten dagegen unter Hypoxie einen leichten Anstieg der Mittelwerte gegenüber der prähypoxischen Phase. Für die unterschiedliche Pegelabnahme ergab sich für 12 kHz ein signifikanter Unterschied ( $p < 0,05$ ) zu den Frequenzen 16 kHz, 8 kHz und 4 kHz. Für 2 kHz war lediglich der Unterschied zu 8 kHz signifikant (siehe Abbildung 18).

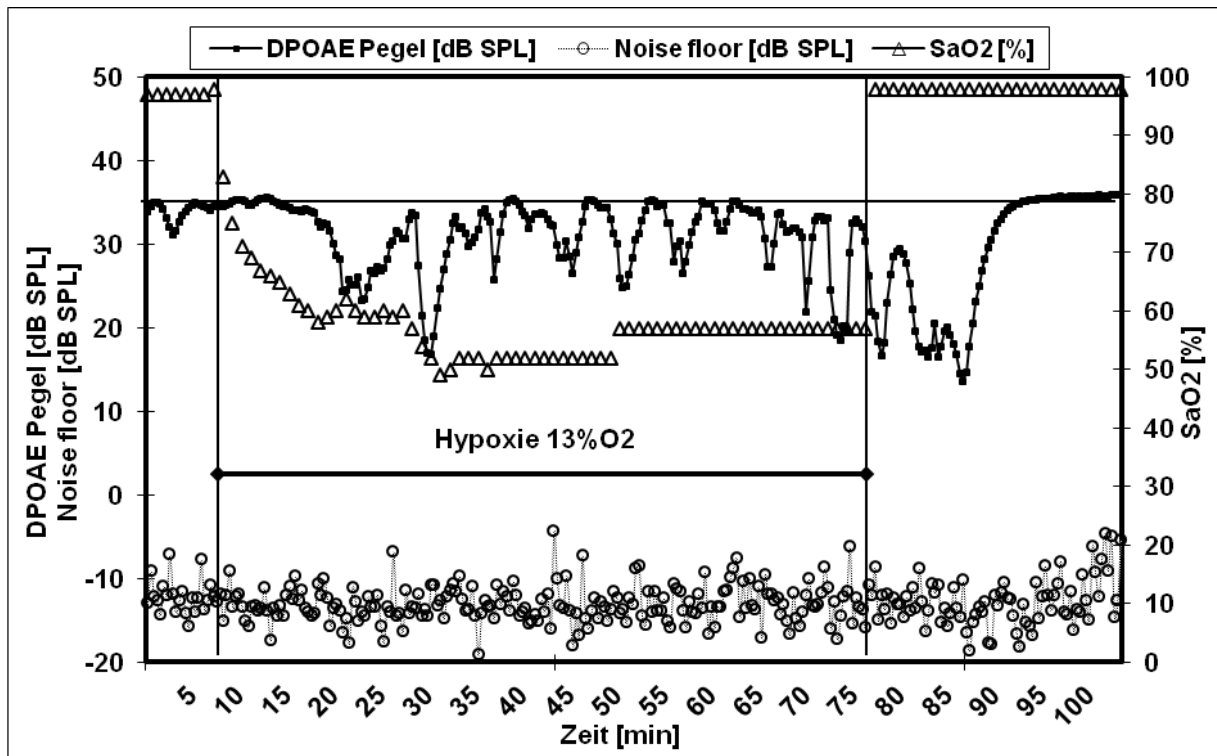


Abb. 11: DPOAE-Pegel, Noise floor und SaO<sub>2</sub> (alle Ordinatenachse) für  $f_2 = 16$  kHz sind gegen die Zeit (Abszissenachse) aufgetragen. Beginn und Ende der Hypoxiephasen sind durch vertikale Linien und horizontale Balken markiert (hier Versuchstier mit Hypoxiephase über 70 Minuten).

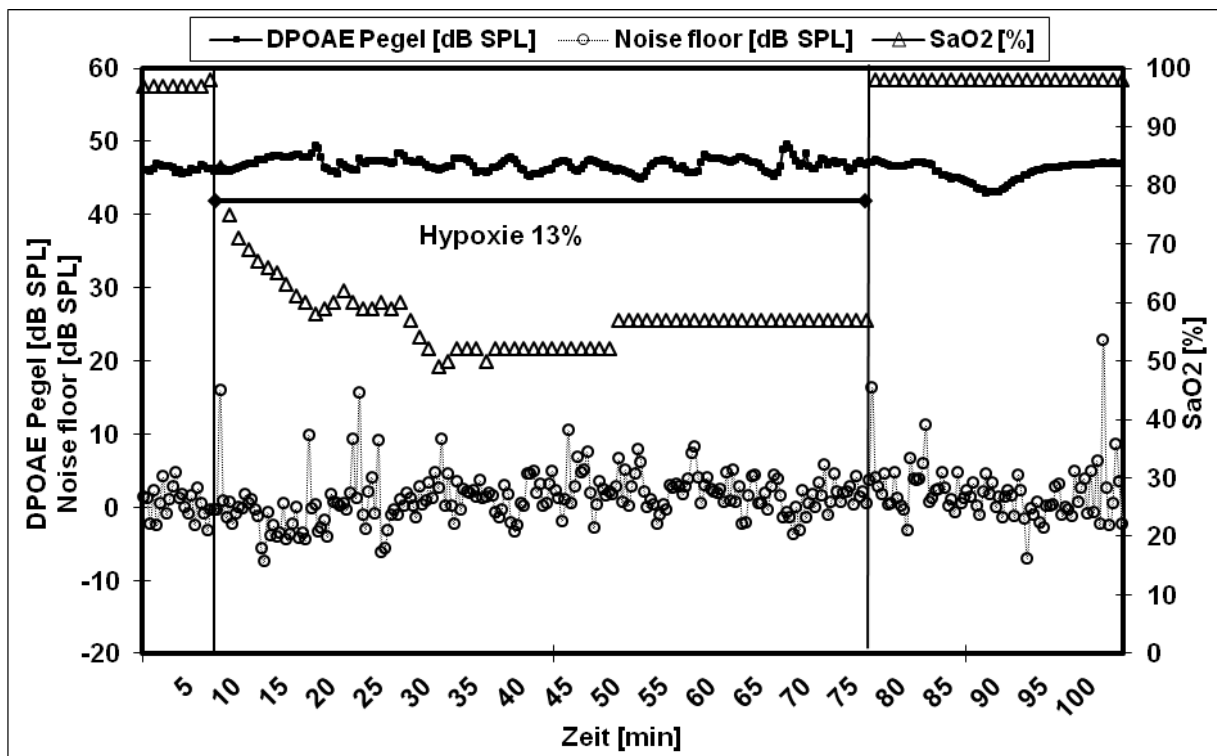


Abb. 12: Für dasselbe Tier sind die Werte bei  $f_2 = 12$  kHz aufgetragen.

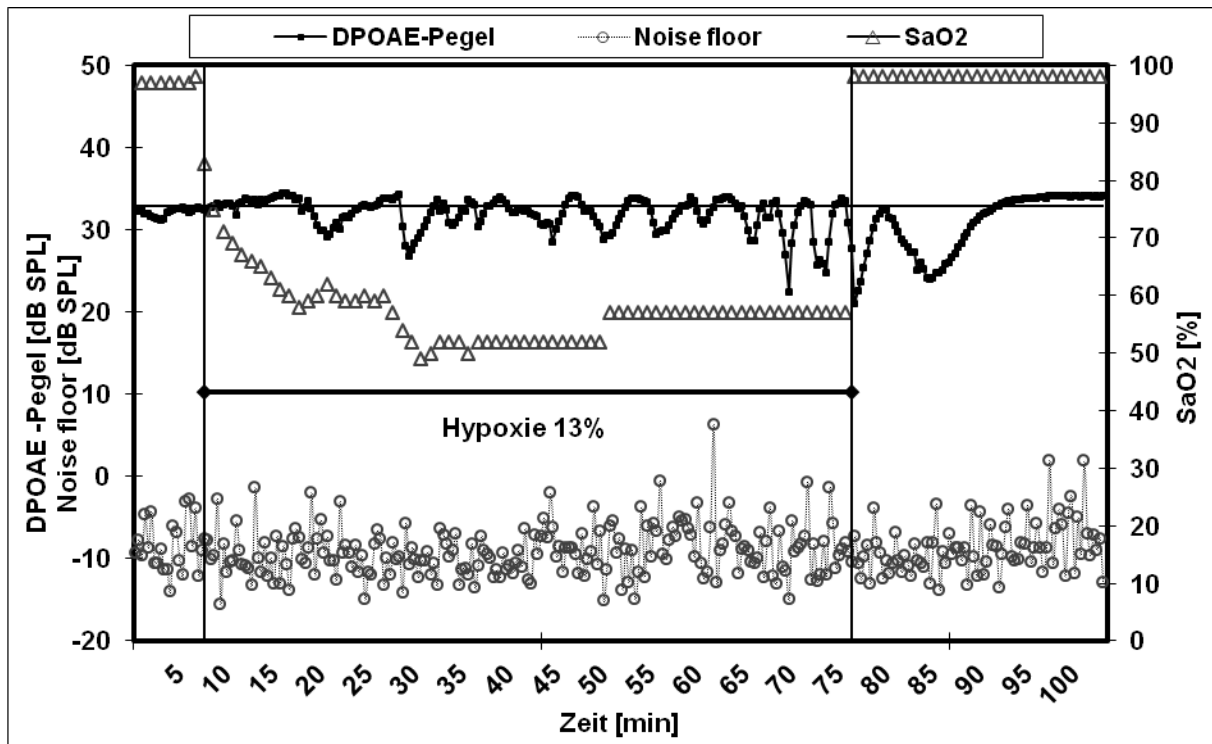


Abb. 13: Für dasselbe Tier sind die Werte bei  $f_2 = 8 \text{ kHz}$  aufgetragen.

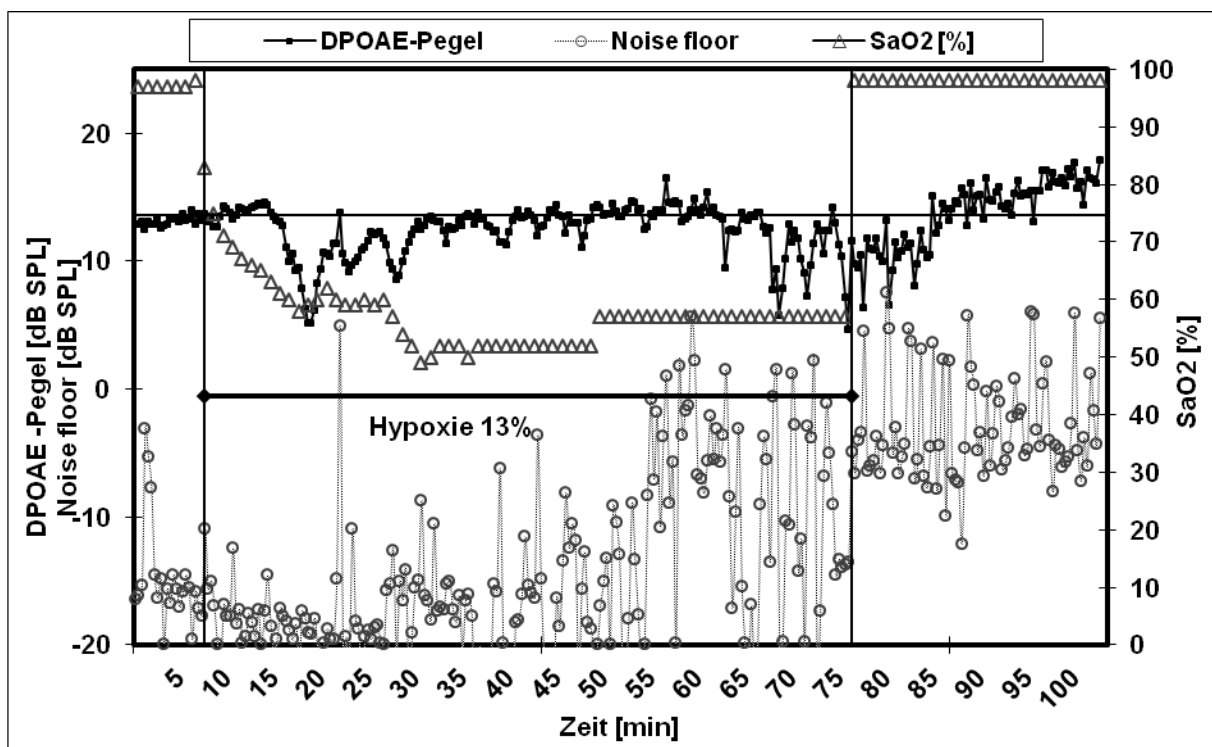


Abb. 14: Für dasselbe Tier sind die Werte bei  $f_2 = 4 \text{ kHz}$  aufgetragen.

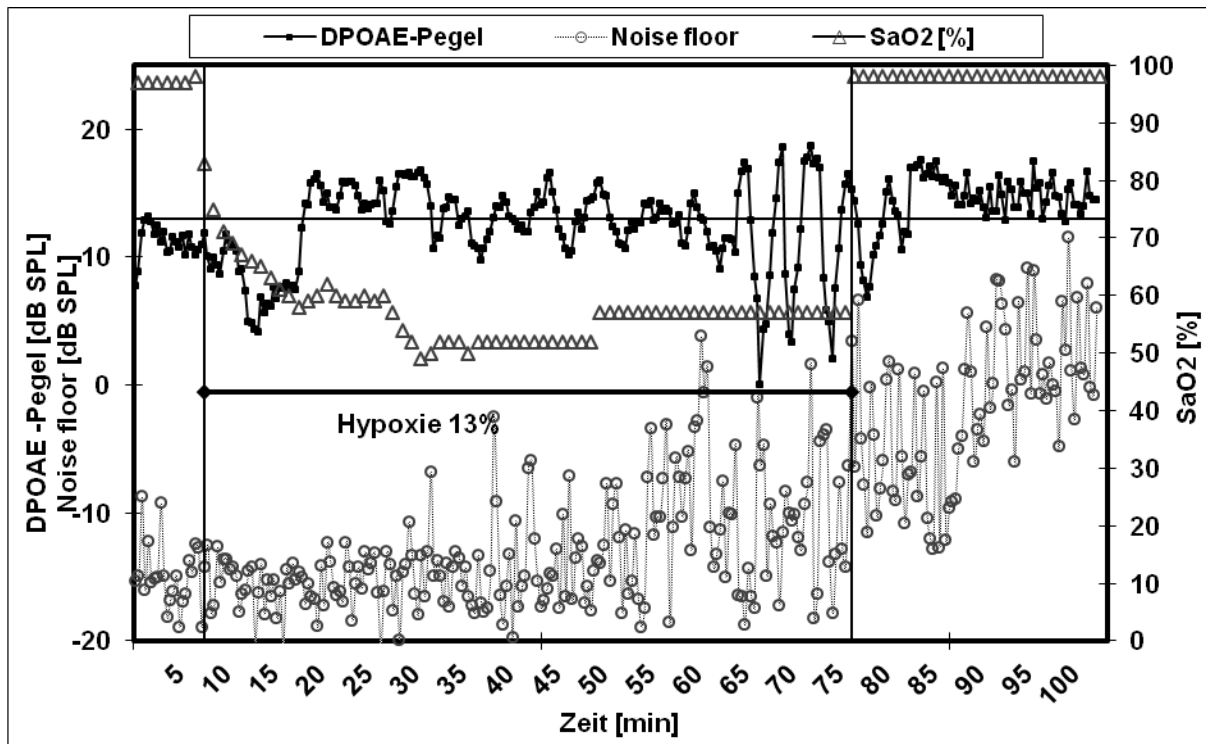


Abb. 15: Für dasselbe Tier sind die Werte bei  $f_2 = 2 \text{ kHz}$  aufgetragen. Ersichtlich sind die im Vergleich zu den höheren Frequenzen zunehmende Schwankungsbreiten der DPOAE-Pegel und das abnehmende Signal-Rausch-Verhältnis.

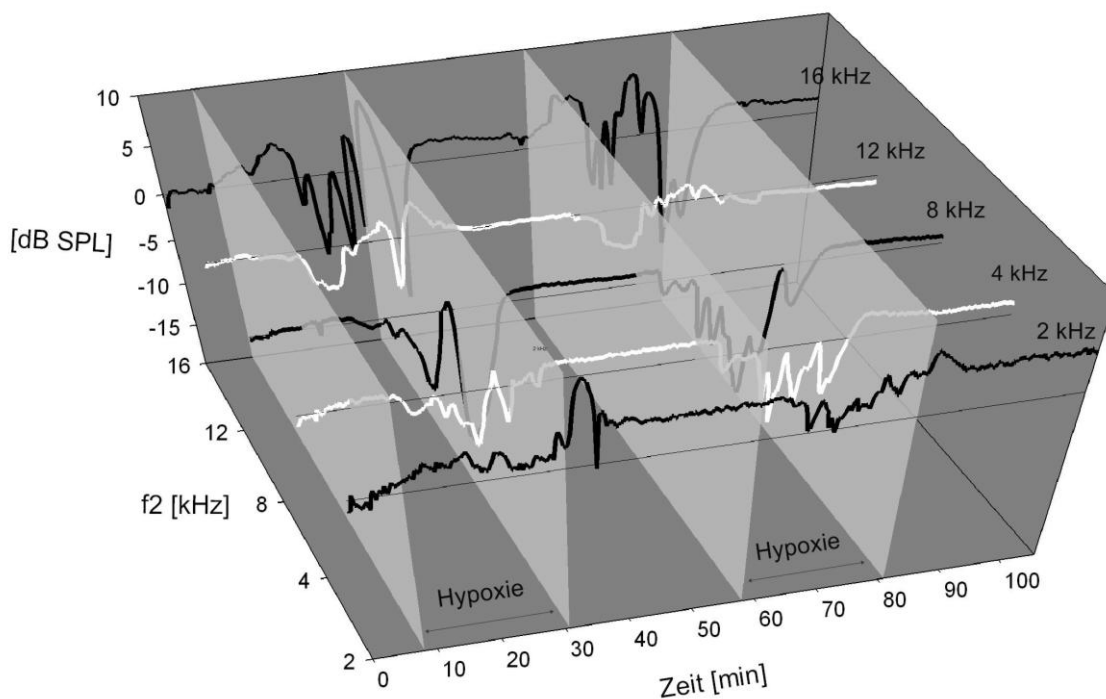


Abb. 16a: In Abb. 16a-f ist für jeweils ein Versuchstier der zeitliche Verlauf der auf den prähypoxischen Mittelwert normalisierten DPOAE-Pegel (gezeigt werden dementsprechend keine Absolutwerte) für alle gemessenen Frequenzen über zwei Hypoxiephasen dargestellt. Die hellgrauen Flächen markieren Beginn und Ende der einzelnen Hypoxiephasen. Der prähypoxische Mittelwert der jeweiligen Frequenz ist als horizontale Linie den einzelnen Frequenzen unterlegt.



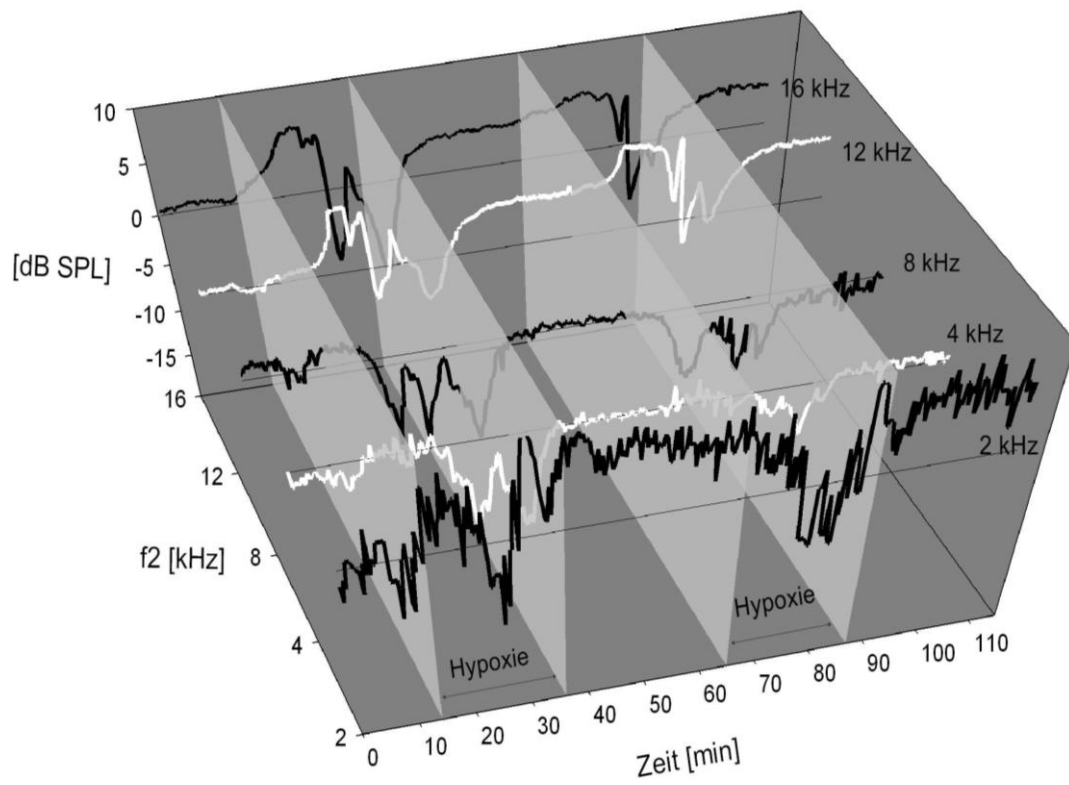


Abb. 16b

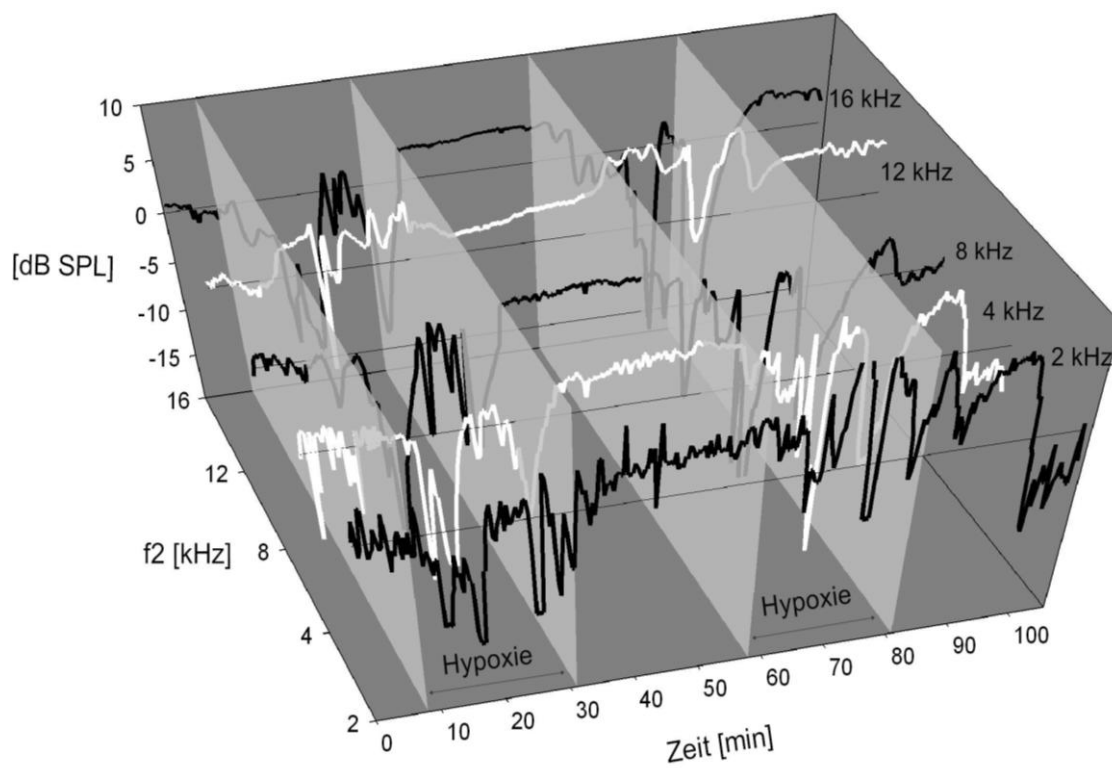


Abb. 16c

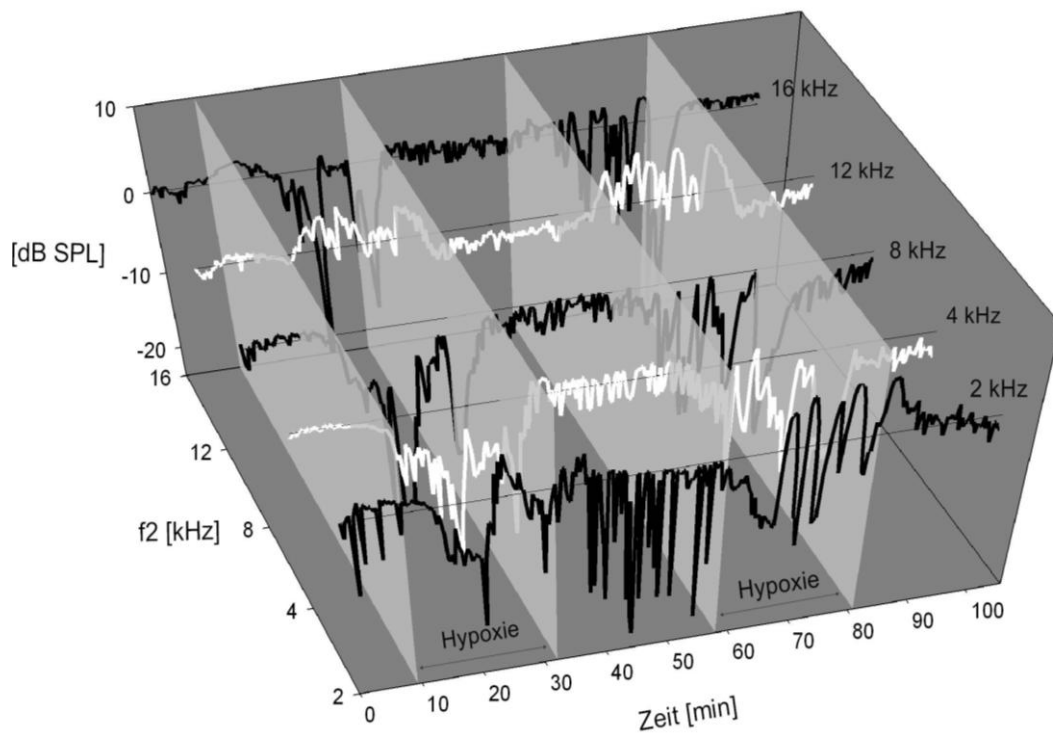


Abb. 16d

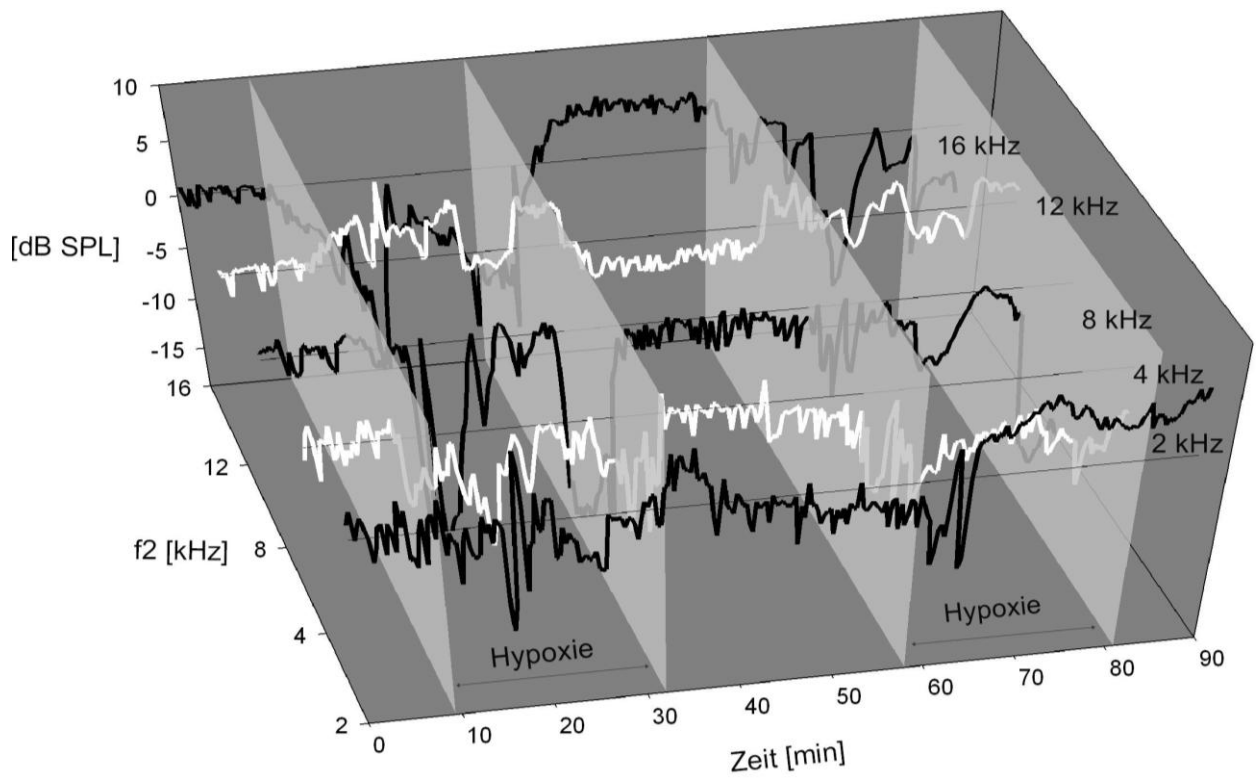


Abb. 16e

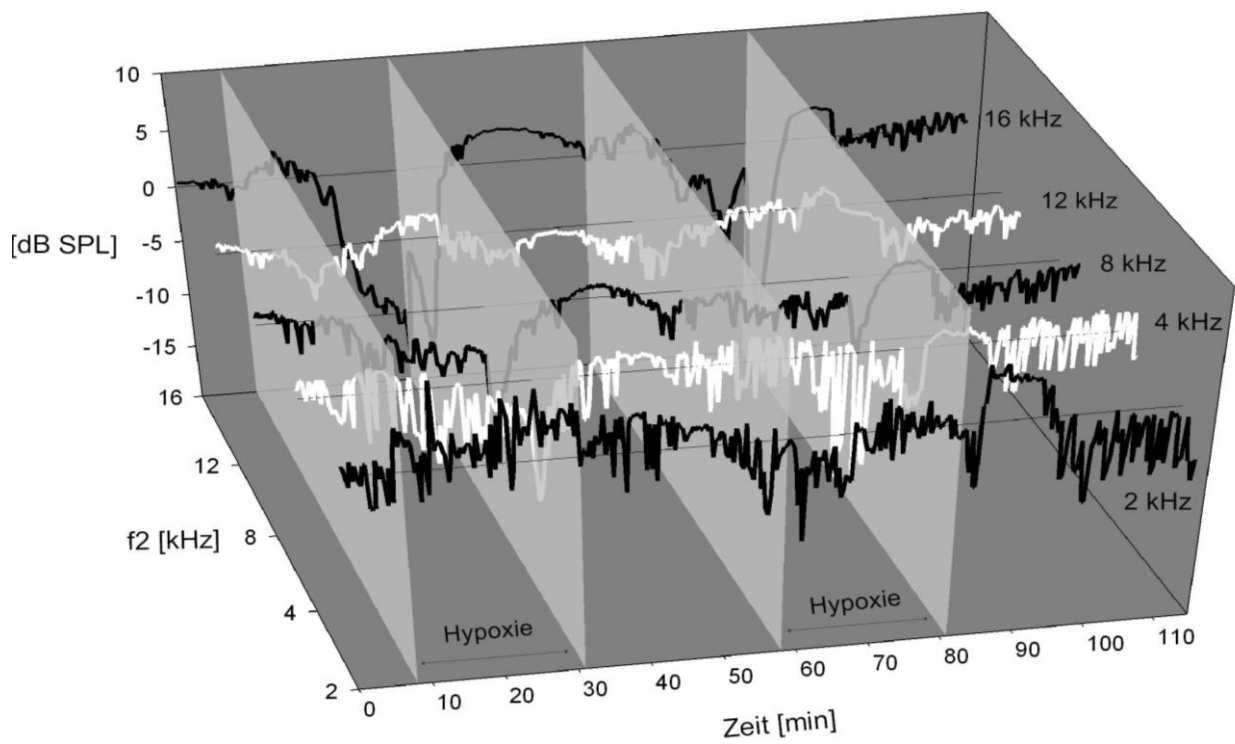


Abb. 16f

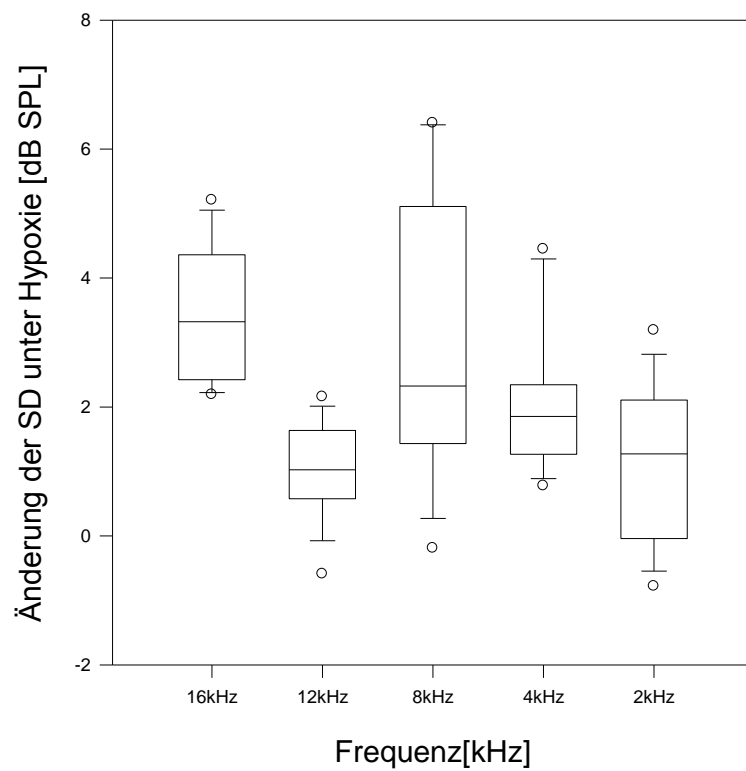


Abb. 17: Veränderung der Standardabweichung des DPOAE-Signals unter Hypoxie.

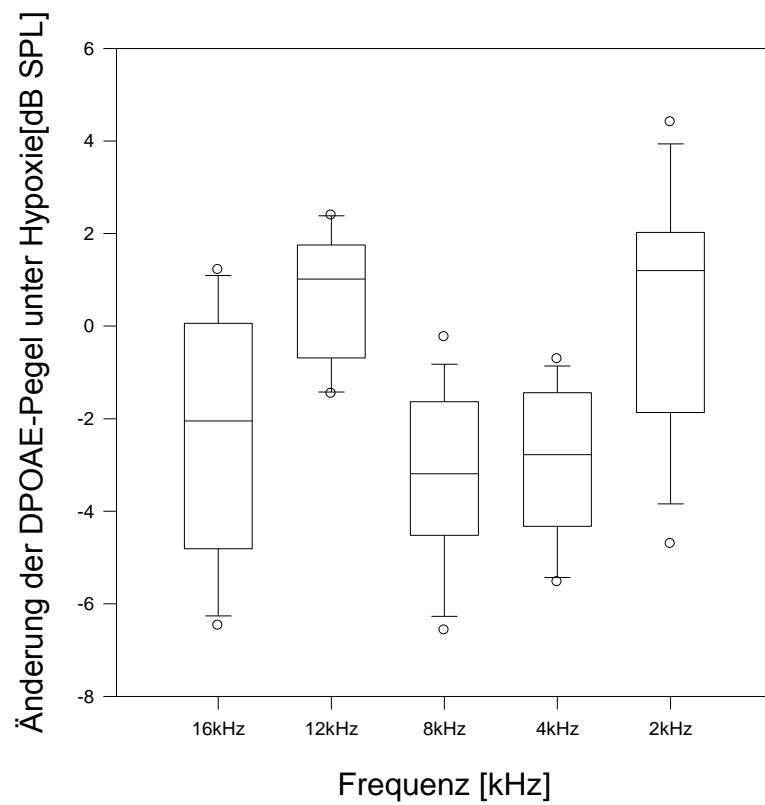


Abb. 18: Änderung der Mittelwerte der DPOAE-Pegel (Mittelwert, Standardabweichung nach unten und oben, Minimum und Maximum) unter Hypoxie aller 14 Hypoxiephasen für die einzelnen Stimulusfrequenzen.

## **4. Diskussion**

### **4.1 Diskussion des Modells**

#### **4.1.1 Versuchstiere**

Für die Wahl des Meerschweinchens als Versuchstier sprachen mehrere Gründe. Zum einen sind Physiologie und Anatomie des Meerschweinchens als klassischem Versuchstier hinreichend bekannt. In der DPOAE-Forschung handelt es sich um das am meisten eingesetzte Versuchstier. Zudem zeigen DPOAE bei Meerschweinchen und Mensch ähnliche Charakteristika (Withnell 2003). Es existiert eine speziell auf das Meerschweinchen abgestimmte Pegelschere für eine optimale Generierung von DPOAE (Michaelis 2004). Ihr Hörbereich umfasst mit einem ungefähren Frequenzbereich von 16 Hz bis 33 kHz einen Ähnlichen wie der Mensch (ca. 20 Hz bis 16 kHz). Somit lässt sich der größte Teil davon mit handelsüblichen, für Messungen am Menschen entworfenen Messeinheiten abdecken. Aufgrund der Größe des Gehörganges kann zudem durch nur minimale Modifikation der standardmäßigen Sondenaufsätze ein guter SONDENSITZ erreicht werden.

In den zwei Versuchsreihen konnten schließlich bei allen Meerschweinchen in beiden Ohren ausreichende DPOAE-Signale im Frequenzbereich zwischen 2 kHz und 16 kHz generiert werden.

#### **4.1.2 Narkose und Monitoring**

Bei verschiedenen Anästhetika sind in der Literatur Störeinflüsse auf OAE-Messungen beschrieben. So konnten bei Ketamin/Xylazine (Hatzopoulos 2002) und bei Pentobarbital/Ketamin/Xylazine (Kettembeil 1995) eine Abnahme der DPOAE-Pegel beobachtet werden. Unter Isoflurannarkose ergab sich dagegen ein Anstieg der DPOAE-Pegel (Drexl 2004). Für N<sub>2</sub>O wurde 1992 eine Abnahme der TEOAE-Pegel beim Menschen beobachtet (Hauser 1992). Dies wurde allerdings auf eine mögliche Schallleitungsstörung durch die vorbeschriebene Gasdiffusion in die Paukenhöhle zurückgeführt (Perreault 1982). Dieser Effekt konnte später bestätigt werden (u.a. Nader 2004, Doyle 2003, Alper 2011). Eine Verfälschung unserer Ergebnisse durch die Verwendung von N<sub>2</sub>O schlossen wir mittels Parazentese aus. Der daraus resultierende Trommelfelldefekt war so gering, dass kein relevanter Einfluss auf die DPOAE-Pegel zu erwarten war (LeBourgeois 2000). Die von Ueda

1998 beobachteten Pegelabnahmen nach Parazentese traten nur in den Frequenzen  $< 1$  kHz auf und hatten somit keine Bedeutung für unsere Experimente (Ueda 1998). Für die in unseren Versuchen verwendete Kombination aus Medetomidin, Fentanyl und Midazolam sind in der Literatur bislang keine Auswirkungen auf DPOAE erwähnt worden. In einer Arbeit über den Olivocochlearen Reflex zeigten sich 2002 für Fentanyl keine Störeinflüsse (Boyev 2002). Bezüglich der Sicherheit, Hämodynamik und der respiratorischen Situation einer Narkose mit Medetomidin, Fentanyl und Midazolam sind in der Literatur gute Erfahrungen bei Meerschweinchen beschrieben worden (Seidensticker 2004).

Bei zwei nicht in die spätere Datenanalyse übernommenen Versuchstieren kam es unter Hypoxie mit einer  $FiO_2$  von 12 % zu einer vorübergehenden Schnappatmung. Da sich nach kurzzeitiger Erhöhung der  $FiO_2$  wiederum ein normales Atemmuster zeigte, dürfte dies auf die ausgeprägte Hypoxie und nicht eine eventuelle zu tiefe Sedierung mit Atemdepression zurückzuführen sein.

Da Störeinflüsse auf DPOAE-Signale auch bei Hypothermie beschrieben wurden (Borin 2008), wurde die Temperatur mittels der genannten Wärmedecke auf  $38^\circ \pm 0,2^\circ$  gehalten. Da es sich bei der erwähnten Studie zudem um herzchirurgische Patienten während extrakorporaler Zirkulation mit Temperaturen unterhalb von  $30^\circ$  handelte, kann ein derartiger Störeinfluss auf unsere Daten ausgeschlossen werden.

#### **4.1.3 Hypoxie**

Die Entscheidung, die Versuche in Spontanatmung durchzuführen, wurde aufgrund der beobachteten guten Steuerbarkeit und der auch in Hypoxiephasen sowohl klinisch als auch pulsoxymetrisch stabilen respiratorischen Situation getroffen. Eine maschinelle Beatmung bot demgegenüber keine weiteren Vorteile. Vielmehr zeigten sich nach Tracheotomie Hinweise auf eine vermehrte Bronchokonstriktion und -sekretion, zudem war eine deutlich tiefere Narkose notwendig mit daraus möglicherweise resultierenden weiteren Störeinflüssen. Eine orotracheale Intubation wird bei Meerschweinchen aufgrund der extrem langen Luftwege als schwierig beschrieben (Heide 2003).

In beiden Versuchsreihen konnte die angestrebte Sauerstoffsättigung problemlos mittels der inspiratorischen Sauerstoffkonzentration ( $FiO_2$ ) gesteuert werden. In der Kontrolle mittels Blutgasanalyse befanden sich  $pCO_2$  und pH-Wert stets im

normwertigen Bereich. Eine Azidose, Alkalose oder eine Hyperkapnie hätten über eine Veränderung der Sauerstoffbindungskurve (Klinke, Silbernagl 2003), eine Störung der cerebralen Autoregulation (Taccone 2010) und weitere Faktoren möglicherweise Einfluss auf die cochleäre Funktion. Eine Einflussnahme auf den  $p\text{CO}_2$  und den pH-Wert mittels Steuerung des Atemminutenvolumens durch eine kontrollierte maschinelle Ventilation war in unseren Versuchen bei normalen Werten jedoch nicht nötig.

## **4.2 Diskussion der Ergebnisse**

### **4.2.1 DPOAE-Messungen**

Bekanntermaßen hängen die zu erwartenden DPOAE-Pegel vom Pegel der verwendeten Stimulustöne ab (Whitehead 1995). Um ein stabiles DPOAE-Signal mit gutem Signal-Rausch-Verhältnis zu erhalten, müssen demnach ausreichende Stimuluspegel verwendet werden. Bei Anoxie der Cochlea fallen die DPOAE-Pegel bei niedrigen Stimuluspegeln ab und lassen sich nicht mehr vom Hintergrundrauschen differenzieren (Whitehead 1992). Um DPOAE zu erhalten, die zwar gut messbar, aber dennoch sensitiv für Hypoxie-induzierte Veränderungen sind wählten wir moderate Stimuluspegel für beide Versuchsreihen. Bei 16 kHz ließen sich in den Vorversuchen mit  $L_1 = 65 \text{ dB}$  und  $L_2 = 55 \text{ dB}$  stabile DPOAE mit gutem Signal-Rausch-Verhältnis erzeugen, so dass diese in der Versuchsreihe mit kontinuierlicher Einzelfrequenzmessung eingesetzt wurden. Hier zeigten nur 0,59% ein Signal-Rausch-Verhältnis von  $< 6 \text{ dB}$  und konnten somit in der Auswertung nicht berücksichtigt werden.

In der Versuchsreihe mit kontinuierlich aufgezeichnetem DP-Gram wurden neben 16 kHz auch die Frequenzen  $f_2 = 12 \text{ kHz}$ , 8 kHz, 4 kHz und 2 kHz gemessen. Bereits in den Vorversuchen zeigte sich, dass im Frequenzbereich unter 8 kHz zunehmend leisere DPOAE mit geringerem Signal-Rausch-Verhältnis generiert werden. Unterhalb von 2 kHz ließen sich kaum noch Signale erfassen, die ein Signal-Rausch-Verhältnis von  $> 6 \text{ dB}$  boten und somit sicher cochleärer Genese waren. Um auch in den tieferen Frequenzen bis 2 kHz einen ausreichenden Anteil an gültigen Messungen zu erhalten, wurden mit  $L_1 = 69 \text{ dB}$  und  $L_2 = 60 \text{ dB}$  höhere Stimulus-Pegel als in der Versuchsreihe mit kontinuierlicher Einzelfrequenzmessung gewählt. Trotz dessen betrug der Anteil ungültiger Messwerte für 2 kHz in der zweiten

Versuchsreihe 4,06%. Da der mittlere Pegel des Hintergrundrauschens bei 2 kHz mit -10,07 dB unterhalb des Mittelwertes aller Frequenzen von -9,11 dB lag, kann hierfür nicht das lautere Hintergrundrauschen, sondern allein der leisere Pegel ursächlich sein. Dies zeigt sich auch daran, dass bei 12 kHz das lauteste Hintergrundrauschen (2,56 dB) vorhanden war, sich jedoch die wenigsten ungültigen Messwerte zeigten (0,05%).

#### **4.2.2. DPOAE-Veränderungen unter Hypoxie in der Literatur**

Mehrere Studien beschreiben einen Abfall der DPOAE-Pegel bei einer Ischämie der Cochlea. Diese konnte durch einen Verschluss der A. labyrinthi mittels Kompression des Inneren Gehörgangs (Widick 1994, Mom 1997, Mom 1999, Morawski 2006) oder durch magnetisch geleitete Eisenpartikel (Schweinfurth 2000) induziert werden. Zudem gibt es Studien zu DPOAE-Veränderungen nach Asphyxie oder medikamentös induziertem Herz-Kreislauf-Stillstand (Schmiedt 1981, Lonsbury-Martin 1987).

Über Veränderungen otoakustischer Emissionen unter Hypoxie existieren dagegen bislang nur wenige experimentelle Arbeiten. Rebillard zeigte 1992 eine Abnahme der DPOAE-Pegel sowie des Endocochleären Potentials (EP) unter Hypoxie mit 6 – 10% Sauerstoff in einem Stickstoff/Sauerstoff-Gemisch. Entgegen der Annahme, dass eine Beeinträchtigung der cochleären Funktion unter Hypoxie hauptsächlich durch eine Störung der energieaufwendigen Kaliumpumpen in der stria vascularis mit resultierender Abnahme des EP bedingt sind, zeigte sich keine Übereinstimmung im zeitlichen Verlauf von OAE und EP. Auch bestand weder ein quantitativer Zusammenhang zwischen DPOAE- und EP-Abnahme, noch korrelierten diese mit der eingestellten  $\text{FiO}_2$  (Rebillard 1992).

Sawada erzeugte 2001 durch eine Vergrößerung des respiratorischen Totraums eine Hypoxie. Während die dabei abgeleitete ERA deutlich beeinträchtigt war, zeigten die DPOAE nur vereinzelt geringfügige Veränderungen (Sawada 2001). Angaben über das Ausmaß der durch Reduktion der  $\text{FiO}_2$  bzw. Vergrößerung des Totraums verursachten Hypoxämie konnten weder hier noch bei Rebillard gemacht werden, da weder eine Kontrolle durch Pulsoxymetrie noch regelmäßige Blutgasmessungen erfolgten. Bei Sawada kann durch den vergrößerten respiratorischen Totraum



zusätzlich eine CO<sub>2</sub>-Retention mit respiratorischer Azidose als möglicher Einflussfaktor vermutet werden.

Freeman stellte 1995 bei Katzen unter Hypoxie mit Sauerstoffsättigungen von 28 – 48% einen Anstieg der für ein gültiges DPOAE-Signal notwendigen Stimulus-Pegel um durchschnittlich 10 dB fest. Die Sauerstoffsättigung wurde mittels einer einzelnen Blutgasanalyse unter Hypoxie gemessen, für die DPOAE wurden in 10 minütigen Abständen Wachstumskurven aufgezeichnet (Freeman 1995).

#### **4.2.3. Destabilisierung und zeitlicher Verlauf der DPOAE unter Hypoxie**

Der auffälligste Effekt von Hypoxie auf die DPOAE in unseren Versuchen war eine massive Pegelinstabilität. Dies war bislang nicht bekannt. Eine Ursache in dem geringeren Signal-Rausch-Verhältnis unter Hypoxie kann ausgeschlossen werden, da sich auch bei Tieren ohne einen Abfall der mittleren DPOAE-Pegel eine Pegelinstabilität ergab. Aus den Diagrammen der Publikation von Rebillard von 1992 lässt sich eine Zunahme der Schwankungsbreite der DPOAE-Pegel unter Hypoxie im Vergleich zu prähypoxischen Pegeln zwar erahnen, dies wurde von den Autoren jedoch nicht erwähnt oder statistisch aufgearbeitet. Da Freeman lediglich zweimalig eine Wachstumsfunktion erstellte, ist das Erkennen einer Pegelinstabilität nicht zu erwarten.

Wie sich in einem unserer Versuchstiere mit einer mittleren Sauerstoffsättigung unter Hypoxie von 75% zeigte, ergeben sich oberhalb einer gewissen Sättigung weder eine Verminderung noch eine vermehrte Instabilität der DPOAE-Pegel. Sawada führte zwar keine Messungen der SaO<sub>2</sub> durch, aufgrund der Beschreibungen ist aber denkbar, dass eine eher geringe Hypoxie vorlag und daher keine Instabilitäten auftraten. Aufgrund der cochleären Autoregulation erfolgt bei einem Abfall des O<sub>2</sub>-Partialdruckes (pO<sub>2</sub>) eine vermehrte Durchblutung. Hierdurch kann die Hypoxämie durch die vermehrte Zufuhr von Blut in einem gewissen Bereich ausgeglichen werden. Fällt der pO<sub>2</sub> jedoch weiter ab, kann dies nicht mehr kompensiert werden.

Thalman konnte bereits 1972 zeigen, dass der Gehalt an energiereichen Phosphaten in der stria vascularis bereits nach einer Ischämiezeit von weniger als einer Minute auf ein Fünftel der Ausgangsmenge zurückgeht. Demgegenüber ließ sich auch nach über 20 minütiger Ischämie im Corti-Organ über die Hälfte des Ausgangswertes messen (Thalman 1972). Die Erzeugung des Endocochleären Potentials über die

$\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -ATPase in der Stria vascularis ist ein höchst energieaufwändiger Prozess, der mittels eines unter Sauerstoffmangel notwendigen anaeroben Stoffwechsels nicht adäquat aufrechterhalten werden kann. So ist zu erwarten, dass es bei Hypoxie zu einem raschen Abfall des endocochleären Potentials kommt, wie es auch von Rebillard gezeigt werden konnte. Hierdurch ist die vom EP abhängige Funktion der OHC gestört, es kommt zu einem Abfall der DPOAE-Pegel. Da jedoch der zelluläre Stoffwechsel in den OHC über einen längeren Zeitraum aufrechterhalten werden kann, kann auch nach prolongierter Hypoxie noch eine restitutio ad integrum erfolgen, wie sie auch bei unseren Versuchen nach Hypoxiezeiten von bis zu 2 Stunden beobachtet werden konnte.

Bei zwei Versuchstieren der Versuchsreihe mit kontinuierlicher Einzelfrequenzmessung, die unter reduzierter  $\text{FiO}_2$  Sättigungswerte unter 40% und eine Schnappatmung entwickelten, konnte im Verlauf jedoch keine Erholung der DPOAE erzielt werden. Somit ist anzunehmen, dass weniger die Dauer der Hypoxie einen irreparablen Funktionsverlust erzeugt, als das Unterschreiten eines gewissen Grenzwertes über die Dauer von mehreren Minuten. In den Versuchen von Mom ergab sich bei Versuchstieren, die einer Ischämiezeit von über 5:30 Minuten ausgesetzt waren, keine Erholung der OAE.

Entgegen der Annahme, dass eine Beeinträchtigung der cochleären Funktion und der DPOAE unter Hypoxie hauptsächlich durch den nun fehlenden Spannungsgradienten bedingt sind, zeigte sich bei Rebillard jedoch weder ein quantitativer Zusammenhang noch eine Übereinstimmung im zeitlichen Verlauf von Endocochleärem Potential und DPOAE. Somit ist anzunehmen, dass weitere Faktoren diesen Verlauf beeinflussen. Hinweise auf einen dieser Faktoren kann der in fast allen unseren Versuchstieren vorhandene erneute Pegelabfall nach Beendigung der Hypoxie liefern. So kam es wie beschrieben unmittelbar nach Hypoxieende zu einem vorübergehenden, maximal über wenige Minuten andauernden Pegelanstieg. Anschließend ergab sich bei bereits nahezu normalisierten  $\text{SaO}_2$ -Werten ein erneuter massiver Pegelabfall, nach welchem sich die DPOAE über mehrere Minuten erst wieder dem prähypoxischen Niveau annäherten. Dieser Effekt wurde bereits von Rebillard beschrieben und als Post-Hypoxie-Effekt bezeichnet. In den Studien von Mom und Schmiedt konnte dieser ebenfalls bei Kaninchen und Wüstenrennmäusen nachgewiesen werden.

Wäre der DPOAE-Abfall allein auf eine Reduktion der Motilität der OHC aufgrund des kleineren endocochleären Potentials zurückzuführen, müssten sich nach Hypoxie auch die DPOAE rasch erholen, wie Rebillard es für das Endocochleäre Potential zeigen konnte. Die die efferente Innervation der OHC bildenden medialen olivocochleären Neurone können die Kontraktilität der OHC und somit die Verstärkerfunktion und die Pegel der DPOAE ebenfalls beeinflussen. Eine mögliche Erklärung des Post-Hypoxie-Effekts durch cerebrale Steuerungsmechanismen konnte allerdings durch den Nachweis von identischen Pegelveränderungen auch nach kompletter Blockierung der efferenten Synapsen mit Strychnin oder d-Tubocurarin ausgeschlossen werden.

Bedenkt man die unter einer beeinträchtigten Funktion der Stria vascularis zu erwartenden osmotischen Vorgänge könnte der Effekt folgendermaßen erklärt werden. Nach Beendigung der Hypoxie erhält die Stria vascularis wieder ausreichend Sauerstoff um Kaliumionen in die Endolympe zu pumpen. Dies führt über einen Anstieg der Osmolarität zu einem Wassereinstrom. Hieraus resultiert ein endolymphatischer Hydrops, welcher bekanntermaßen zu einer Pegelabnahme der DPOAE führt (Okubo 1995). Nach Wiederherstellen der physiologischen Situation nähern sich die DPOAE-Pegel über Minuten ihrem prähypoxischen Niveau wieder an.

Im Anschluss an den Post-Hypoxie-Effekt kam es bei einigen unserer Tiere zu einem kurzzeitigen, vorübergehenden Pegelanstieg über das prä- und posthypoxische Niveau hinaus. Dies ließ sich auch in einigen Tieren nach Beginn der Hypoxie beobachten. Ähnliche OAE-Pegelanstiege wurden auch nach Beschallung mit einem lauten, tieffrequenten Ton beschrieben (Kemp 1986, Kirk 1997). Eine vorübergehende Hyperakusis mit Absinken der Hörschwelle beim Menschen nach ähnlicher Sensibilisierung ist seit langem bekannt (Hughes 1954, Noffsinger 1970). Bei Kirk sowie bei Versuchen am Menschen (Hirsh 1952) trat der Effekt jeweils nur bei ca. 2/3 der Versuchstiere oder Probanden auf.

Kirk erklärte das Phänomen 1997 durch eine kurzzeitige Verschiebung in der Geometrie des Corti-Organ. Für die OHC existiert eine bestimmte Lage zwischen Scala tympani und Tektorialmembran, „operating point“ genannt, an dem optimale Bedingungen für die Kontraktionen der OHC bestehen. Die normale Position ist jedoch nicht zwangsläufig die optimale. Durch einen endolymphatischen Hydrops würde der „operating point“ bei den Individuen mit suboptimaler Ruhelage

vorübergehend in die optimale Position gebracht werden, was sich in einem vorübergehenden Pegelanstieg der DPOAE bemerkbar machen würde.

Was den endolymphatischen Hydrops im Falle der genannten Sensibilisierung auslöst, ist unklar. So kommt es zwar ähnlich wie nach Hypoxie nach Beschallung mit einem lauten, tieffrequenten Ton zu einem vorübergehenden Kaliumanstieg der Endolymph (Johnstone 1989), dieser würde allerdings nicht in der beobachteten Zeitspanne ablaufen.

#### **4.2.4. DPOAE-Pegelabnahme unter Hypoxie**

In den bisherigen Studien konnte im Gegensatz zu unseren Daten keine Korrelation der Abnahme der DPOAE-Pegel mit dem Ausmaß der Hypoxie nachgewiesen werden. Dies ist, wenn man die Methodik der Studien genauer betrachtet, nicht verwunderlich. So kann die letztendlich resultierende Hypoxämie weder bei Rebillard noch bei Sawada quantifiziert werden. Verschiedene individuelle Faktoren wie z.B. die Diffusionskapazität der Lunge können trotz maschineller Ventilation mit dem gleichen Beatmungsmuster zu einem unterschiedlichen Sauerstoffgehalt des Blutes führen. Bei den Daten von Freeman wurde hingegen der  $pO_2$  unter Hypoxie durch eine Blutgasanalyse bestimmt. Da jedoch lediglich DPOAE-Wachstumskurven in 10 minütigen Abständen gemessen wurden, kann angesichts der beobachteten massiven Pegelschwankungen unter Hypoxie keinerlei Rückschluss auf den durchschnittlichen DPOAE-Pegel gezogen werden.

#### **4.2.5. Frequenzspezifische DPOAE-Veränderungen unter Hypoxie**

Bei vielen Pathologien des Innenohres sind frequenzspezifische Veränderungen bekannt. So kommt es z.B. beim Morbus Menière zu einem Hörverlust im Tieftonbereich, wohingegen die Presbyakusis vorwiegend die hohen Frequenzen betrifft. Frequenzspezifische Veränderungen der DPOAE unter Hypoxie sind bislang kaum untersucht worden. Rebillard wählte eine einzelne Frequenz ( $f_2 = 7$  kHz) für seine Messungen, bei Freeman wurde die für das jeweilige Versuchstier am besten messbare Frequenz aus einem Bereich von 3,5 bis 7 kHz gewählt. Sawada zeichnete Wachstumskurven ebenfalls nur bei 8 kHz auf, die dazu von ihm nach 5 Stunden Hypoxie ergänzten Wachstumskurven von 1 bis 8 kHz sind angesichts der

erwähnten Pegelschwankungen wiederum nur eine Momentaufnahme der komplexen Pegelverläufe.

Die Ursache der beobachteten Auswirkungen einer Hypoxie auf unterschiedliche Frequenzen ist unklar. Bei der Presbyakusis, bei der als einem der ätiologischen Faktoren eine Ischämie oder Hypoxie durch eine altersbedingte zunehmende Arteriosklerose diskutiert wird (Mazurek 2008), findet sich ein Verlust an IHC und OHC vor allem im basalen Bereich der Cochlea (Soucek 1987, Wright 1987). In histologischen Untersuchungen nach cochleärer Ischämie zeigte sich ebenfalls ein deutlich basal betonter Schaden der OHC (Perlman 1959, Maetani 2003, Lin 2010). Bekanntermaßen haben die basal gelegenen OHC einen höheren Sauerstoffbedarf als die weiter apikal gelegenen (Mizukoshi 1967). Dies wird durch die größere Anzahl an notwendigen Kontraktionen im basalen Bereich der Cochlea erklärt. Da hier die hohen Frequenzen repräsentiert sind, müssen sich die basalen OHC zur Verstärkung der Wanderwelle mit dementsprechend höherer Frequenz kontrahieren.

Somit wären unter Hypoxie mit zunehmender Frequenz größere Pegelabnahmen und Pegelschwankungen zu erwarten, wie in unseren Versuchen größtenteils auch für die Frequenzen 2 kHz, 4 kHz, 8 kHz und 16 kHz beobachtet. Im Gegensatz hierzu ergaben sich jedoch bei 12 kHz wiederum signifikant geringere Schwankungsbreiten und eher diskret zunehmende DPOAE-Pegel. Dies lässt sich mit dem vorhandenen Modell nicht erklären. Es bleibt lediglich anzumerken, dass sich bei 12 kHz auch unter Normoxie die lautesten DPOAE-Pegel, die geringste Standardabweichung sowie die wenigsten ungültigen Messergebnisse zeigten.

### 4.3. Ausblick

Mit dem Nachweis einer massiven Destabilisierung der DPOAE-Pegel unter Hypoxie konnte ein bisher in der Literatur nicht bekanntes, einfach zu erfassendes Kriterium zum Nachweis einer akuten cochleären Funktionsstörung aufgezeigt werden. In wieweit die Destabilisierung Hypoxie-spezifisch ist, kann jedoch zum jetzigen Zeitpunkt nicht beurteilt werden. Hierfür müssen weitere Studien mit kontinuierlichen DPOAE-Messungen und engmaschigen Messpunktabständen unter dem Einfluss weiterer Störfaktoren (wie z.B. ototoxischer Substanzen) durchgeführt werden.

Es ist anzunehmen, dass die Destabilisierung der DPOAE-Pegel unter Hypoxie ein komplexer Vorgang multifaktorieller Genese ist. Könnte allerdings gezeigt werden, dass die Destabilisierung Hypoxie-spezifisch ist, ergäben sich dadurch umfangreiche Möglichkeiten in Diagnostik, Erforschung und Verständnis von Hörstörungen.

Angesichts des in unseren Versuchen unter Hypoxie beobachteten wiederholten Anstiegs der DPOAE-Pegel auf prähypoxische Werte ist auch denkbar, dass bei milden Hörstörungen trotz cochleärer Funktionsstörung verminderte DPOAE-Pegel in der Messung teilweise nicht erfasst werden. Über die Messung der DPOAE-Pegelinstabilität und den Vergleich mit noch zu erhebenden Normalwerten, ließe sich bereits eine leichte cochleäre Funktionsstörung feststellen.

Hilfreich könnte die Erfassung einer Pegelinstabilität auch bei der Wahl eines Therapieverfahrens beim Hörsturz sein. Seit längerem wird angenommen, dass es sich beim Hörsturz nicht um ein einheitliches Krankheitsbild handelt, sondern um einen Symptomenkomplex mit unterschiedlicher zugrundeliegender Pathogenese. Könnte die jeweilige Genese eingegrenzt werden, wäre eine gezielt auf die jeweilige Ursache gerichtete Therapie möglich. Zwei medikamentöse Therapieverfahren sind derzeit etabliert, mit allerdings weiterhin mangelhafter Studienlage bezüglich deren Wirksamkeit. Basierend auf einer möglichen entzündlichen Genese werden Steroide angewendet, die außer über den immunsuppressiven auch über einen antiödematösen Effekt wirksam sein könnten. Zur Verbesserung der rheologischen Situation bei möglicherweise zugrundeliegender cochleärer Ischämie erfolgt die Therapie mit Hydroxyethylstärke (HES) und/oder Pentoxifyllin (Leitlinie Hörsturz 2010). Sollte sich die von uns beobachtete erhöhte Schwankungsbreite der DPOAE-Pegel als Hypoxie-spezifisch erweisen, könnte ihr Nachweis die Indikation für eine rheologische Therapie begründen.

## 5. Zusammenfassung

Otoakustische Emissionen (OAE) werden von den Äußeren Haarzellen im Corti-Organ im Rahmen der aktiven Verstärkerfunktion der Cochlea generiert. Die Messung von OAE ermöglicht somit die Beurteilung der cochleären Funktion mittels einer einfach durchzuführenden, zuverlässigen und nicht-invasiven Technik. Durch die Lage der Cochlea im Felsenbein sind die nicht-invasiven diagnostischen Möglichkeiten ansonsten deutlich eingeschränkt. Dementsprechend unklar ist bis heute die Pathophysiologie zahlreicher Innenohrschwerhörigkeiten. Könnten einzelne charakteristische Veränderungen der OAE jeweils verschiedenen pathophysiologischen Vorgängen in der Cochlea zugeordnet werden, brächte dies umfangreiche Möglichkeiten in Erforschung und Diagnostik von Innenohrschwerhörigkeiten. Eine cochleäre Ischämie mit folgender Hypoxie wird bei vielen Hörstörungen diskutiert.

Ziel dieser Arbeit war die Etablierung eines Tiermodells, an dem die Veränderung der Pegel von Distorsionsprodukten Otoakustischer Emissionen (DPOAE) durch verschiedene Einflussfaktoren frequenz-spezifisch und im Zeitverlauf untersucht werden können. Insbesondere sollten die Veränderungen durch Hypoxie detailliert charakterisiert werden.

Mit dem etablierten Tiermodell konnten störungsfreie DPOAE-Messungen unter stabilen Rahmenbedingungen erreicht werden. Durch kontinuierliches Monitoring mittels invasiver Blutdruckmessung und pulsoxymetrischer Bestimmung der Sauerstoffsättigung konnten kontrollierte Bedingungen zur Reduktion etwaiger Verzerrungseffekte geschaffen werden. Die Genauigkeit der Pulsoxymetrie wurde mittels Blutgasanalyse validiert.

Erstmalig beschrieben werden konnte eine ausgeprägte Destabilisierung der DPOAE-Pegel unter Hypoxie. Eine bereits von mehreren Autoren berichtete Pegelabnahme konnte zudem erstmals mit dem Grad der Hypoxie korreliert werden, welcher mittels kontinuierlichem Monitoring der Sauerstoffsättigung im Blut erhoben wurde. Ein ebenfalls vorbeschriebener erneuter Abfall der DPOAE-Pegel nach Reoxygenierung wurde reproduziert. Dieser dürfte am ehesten durch osmotische Prozesse mit Ausbildung eines endolymphatischen Hydrops bedingt sein.

Darüber hinaus wurde im Zusammenhang mit der Hypoxie ein vorübergehender Pegelanstieg auf Werte über den prähypoxischen Mittelwert beobachtet. Dieser wird,

analog zu ähnlichen Beobachtungen nach Exposition mit Tönen tiefer Frequenz, durch Verschiebung des „operating points“ der Äußeren Haarzellen erklärt. Bei suboptimaler Ausgangsposition befinden diese sich durch die Verschiebung vorübergehend in optimaler Position, was sich in einem Pegelanstieg bemerkbar macht.

Die beobachtete markante Pegelinstabilität ist zwar unseres Wissens bislang für keinen der möglichen Einflussfaktoren beschrieben worden, zur Klärung ob diese tatsächlich Hypoxie-spezifisch ist bedarf es jedoch weiterer Studien. Da deutliche Unterschiede zwischen den einzelnen Frequenzen auffielen, sollten weitere Studien stets ein breites Frequenzspektrum berücksichtigen. Besonders auffallend war ein zu den Veränderungen bei 4, 8 und 16 kHz differentes Muster bei 2 kHz und insbesondere bei 12 kHz. Zusammen mit der einfach erhebbaren Pegelinstabilität könnte eine Analyse der einzelnen Frequenzen einem etwaigen Messmodell zur Erfassung einer cochleären Hypoxie zusätzliche Sicherheit bieten. Ließe sich dadurch tatsächlich eine cochleäre Hypoxie nachweisen, könnte das von großer Bedeutung für das Verständnis von Innenohrschwerhörigkeiten sein und als Bestandteil der audiologischen Diagnostik eventuell bei Therapieentscheidungen helfen.



## 6. Literaturverzeichnis:

Allen GW, Habibi M. The effect of increasing the cerebrospinal fluid pressure upon the cochlear microphonics. *Laryngoscope*. 1962 Apr;72:423-34.

Alper CM, Kitsko DJ, Swarts JD, Martin B, Yuksel S, Cullen Doyle BM, Villardo RJ, Doyle WJ. Role of the mastoid in middle ear pressure regulation. *Laryngoscope*. 2011 Feb;121(2):404-8. Epub 2011 Jan 13.

Ashmore J. Biophysics of the cochlea - biomechanics and ion channelopathies. *Br Med Bull*. 2002;63:59-72.

Ashmore J., Avan P, Brownell WE, Dallos P, Dierkes K, Fettiplace R, Grosh K, Hackney CM, Hudspeth AJ, Jülicher F, Lindner B, Martin P, Meaud J, Petit C, Santos-Sacchi J, Canlon B. The remarkable cochlear amplifier. *Hearing Research* 266 (2010) 1–17

Békésy G. Direct observation of the vibrations of the cochlear partition under a microscope. *Acta Otolaryngol* 1952 Jun;42(3):197-201

Boul A, Lineton B. Spontaneous otoacoustic emissions measured using an open ear-canal recording technique. *Hearing Research Volume 269, Issues 1–2, 1 October 2010, Pages 112–121*

Boyev KP, Liberman MC, Brown MC. Effects of anesthesia on efferent-mediated adaptation of the DPOAE. *J Assoc Res Otolaryngol*. 2002 Sep;3(3):362-73. Epub 2002 Feb 27.

Borin A, Cruz OL. Study of distortion-product otoacoustic emissions during hypothermia in humans. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2008 May-Jun;74(3):401-9.

Brown JN, Thorne PR, et al. (1989). "Blood pressure and other physiological responses in awake and anesthetized guinea pigs." *Lab Anim Sci* 39(2): 142-148

Brownell WE, Bader CR, Bertrand D, de Ribaupierre Y. Evoked mechanical responses of isolated cochlear outer hair cells. *Science*. 1985 Jan 11;227(4683):194-6

Büki B, Avan P, Lemaire JJ, Dordain M, Chazal J, Ribári O. Otoacoustic emissions: a new tool for monitoring intracranial pressure changes through stapes displacements. *Hear Res*. 1996 May;94(1-2):125-39.

Büki B, Giraudet F, Avan P. Non-invasive measurements of intralabyrinthine pressure changes by electrocochleography and otoacoustic emissions. *Hear Res*. 2009 May;251(1-2):51-9.

Cazals Y (2000) Auditory sensori-neural alterations induced by salicylate. *Prog Neurobiol* 62(6):583–631

Czosnyka M, Pickard JD (2004) Monitoring and interpretation of intracranial pressure. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 75(6):813–821

Dallas P. The Active Cochlea. *The Journal of Neuroscience*, December 1992, f2 (12): 4575-4585

Davis H. An active process in cochlear mechanics. *Hear Res.* 1983 Jan;9(1):79-90.

Doyle WJ, Banks JM. Middle ear pressure change during controlled breathing with gas mixtures containing nitrous oxide. *J Appl Physiol.* 2003 Jan;94(1):199-204.

Drexl M, Henke J, Kössl M. Isoflurane increases amplitude and incidence of evoked and spontaneous otoacoustic emissions. *Hear Res.* 2004 Aug;194(1-2):135-42.

Frank AM, Alexiou C, Hulin P, Janssen T, Arnold W, Trappe AE. Non-invasive measurement of intracranial pressure changes by otoacoustic emissions (OAEs)--a report of preliminary data. *Zentralbl Neurochir.* 2000;61(4):177-80.

Feldman RM. Effects of increased cerebrospinal fluid pressure on CM response. *J Speech Hear Res.* 1968 Mar;11(1):18-32.

Freeman S, Goitein K, Attias J, Furst M, Sohmer H (1995) Effect of hypoxemia and ethacrynic acid on ABR and distortion product emission thresholds. *J Neurol Sci* 131:21–29

Gold T. Hearing. II. The physical basis of the action of the cochlea. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* (1948) 135:492–498.

Gopen Q, Rosowski JJ, Merchant SN. Anatomy of the normal human cochlear aqueduct with functional implications. *Hear Res.* 1997 May;107(1-2):9-22.

Hatzopoulos, S., Petruccelli, J., Laurell, G., Finesso, M., Martini, A. Evaluation of anesthesia effects in a rat animal model using otoacoustic emission protocols(I). *Hear. Res.* 2002, 170 (1–2), 12–21.

Hauser R, Probst R, Harris FP, Frei F. Influence of general anesthesia on transiently evoked otoacoustic emissions in humans. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1992 Dec; 101(12):994-9.

Heide, Carmen Zur Inhalationsnarkose unter Isofluran oder Sevofluran mit und ohne Atropin-Prämedikation beim Meerschweinchen (*Cavia porcellus*). Dissertation, München, 2003

Hibino, H., F. Nin, et al. (2010). "How is the highly positive endocochlear potential formed? The specific architecture of the stria vascularis and the roles of the ion-transport apparatus." *Pflugers Arch* 459(4): 521

Hirsh, I.J., Ward, W.D., 1952. Recovery of the auditory threshold after strong acoustic stimulation. *J. Acoust. Soc. Am.* 24, 131 141.

Hoth S. On a possible prognostic value of otoacoustic emissions: a study on patients with sudden hearing loss. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2005 Mar;262(3):217-24. Epub 2004 May 5.

Hoth S, Neumann K, Weissschuh H, Bräunert J, Böttcher P, Hornberger C, Maul H, Beedgen B, Buschmann K, Sohn C, Hoffmann G, Plinkert P. Universal newborn hearing screening. Methodical aspects. *HNO.* 2009 Jan;57(1):29-36.

Hughes, J.R., 1954. Auditory sensitization. *J. Acoust. Soc. Am.* 26, 1064-1070

Interdisziplinäre Konsensus-Konferenz für das Neugeborenen-Hörscreening. Universal hearing screening in newborns. Recommendations for organizing and conducting universal hearing screening for congenital hearing loss in Germany. *HNO.* 2004 Nov;52(11):1020-7.

Janssen T, Kummer P, Arnold W. Wachstumsverhalten der Distorsionsproduktemissionen bei kochleären Hörstörungen. *Otorhinolaryngol. NOVA*, 5 (1995), pp. 34–46

Janssen T. Diagnostics of the cochlear amplifier by means of DPOAE growth functions. *HNO.* 2005 Feb;53(2):121-33. Review.

Johnstone BM, Patuzzi R, Yates GK. Basilar membrane measurements and the travelling wave. *Hear Res.* 1986;22:147-53.

Johnstone BM, Patuzzi R, Syka J, Syková E. Stimulus-related potassium changes in the organ of Corti of guinea-pig. *J Physiol.* 1989 Jan;408:77-92.

Kemp DT. Stimulated acoustic emissions from within the human auditory system. *J Acoust Soc Am.* 1978;64:1386–1391

Kemp, D.T., 1986. Otoacoustic emissions, travelling waves and cochlear mechanisms. *Hear. Res.* 22, 95-104

Kemp DT. Otoacoustic emissions, their origin in cochlear function, and use. *British Medical Bulletin* 2002;63: 223–241

Kettembeil, S., Manley, G.A., Siegl, E., Distortion-product otoacoustic emissions and their anaesthesia sensitivity in the european starling and the chicken. *Hear. Res.* 1995. 86 (1–2), 47–62.

Kirk DL, Patuzzi RB (1997) Transient changes in cochlear potentials and DPOAEs after low-frequency tones: the 'two-minute bounce' revisited. *Hear Res* 112:49–68

Kirk DL, Moleirinho A, Patuzzi RB (1997) Microphonic and DPOAE measurements suggest a micromechanical mechanism for the 'bounce' phenomenon following low-frequency tones. *Hear Res* 112:69–86

Klinke R, Silbernagl S. *Lehrbuch der Physiologie.* 4. Auflage 2003, Thieme Verlag

Klockhoff I, Anggård G, Anggård L. Recording of cranio-labyrinthine pressure transmission in man by acoustic impedance method. *Acta Otolaryngol.* 1966 Apr;61(4):361-70.

Kuhn M, Heman-Ackah SE, Shaikh JA, Roehm PC. Sudden sensorineural hearing loss: a review of diagnosis, treatment, and prognosis. *Trends Amplif.* 2011;15(3):91-105. Epub 2011 May 22.

Kummer P, Janssen T, Hulin P, Arnold W. Optimum  $L_1$ – $L_2$  primary tone level separation remains independent of test frequency in humans. *Hear. Res.*, 146 (2000), pp. 47–56

Lawrence M, Nuttall AL, Burgio PA Oxygen reserve and autoregulation in the cochlea. *Acta Otolaryngol* (1977) 83:146–152

LeBourgeois HW 3rd, Anand VK, McAuley JR, Dickman JD, Malphurs O Jr. Effect of tympanic perforations on the detection of distortion-product otoacoustic emissions. *Ear Nose Throat J.* 2000 Aug;79(8):610-2, 614-6, 618.

Leitlinie Hörsturz 2010. Homepage der AWMF, abgerufen am 22.10.2012.  
[http://www.awmf.org/uploads/tx\\_szleitlinien/017-010I\\_S1\\_Hoersturz.pdf](http://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/017-010I_S1_Hoersturz.pdf)

Lonsbury-Martin BL, Martin GK, Probst R, Coats AC. Acoustic distortion products in rabbit ear canal. I. Basic features and physiological vulnerability. *Hear Res.* 1987;28(2-3):173-89.

Mazurek B, Haupt H, Georgiewa P, Klapp BF, Reissbauer A. A model of peripherally developing hearing loss and tinnitus based on the role of hypoxia and ischemia. *Med Hypotheses*(2006) 67:892–899

Mazurek B., Stöver T., Haupt H., Gross J., A. Szczepek. *Die Entstehung und Behandlung der Presbyakusis*, HNO, Springer Berlin / Heidelberg, Volume 56, Number 4 / April 2008

Mees K, Behnisch A, Suckfüll M. Audimont-a scientific research expedition to Mount Cho Oyu in the Himalayas. *Fortschr Med Orig.* 2003;121(1):1-4.

Merchant SN, Adams JC, Nadol JB Jr Pathology and pathophysiology of idiopathic sudden sensorineural hearing loss. *Otol Neurotol*(2005). 26:151–160

Michaelis CE, Gehr DD, Deingruber K, Arnold W, Lamm K. Optimum primary tone level setting for measuring high amplitude DPOAEs in guinea pigs. *Hear Res.* 2004 Mar;189(1-2):58-62.

Mills DM, Rubel EW (1994) Variation of distortion product otoacoustic emissions with furosemide injection. *Hear Res* 77(1–2):183–199

Mom T, Avan P, Bonfils P, Gilain L. A model of cochlear function assessment during reversible ischemia in the Mongolian gerbil. *Brain Res Brain Res Protoc.* 1999 Dec;4(3):249-57.

Morawski K, Telischi FF, Niemczyk K. A model of real time monitoring of the cochlear function during an induced local ischemia. *Hear Res.* 2006 Feb;212(1-2):117-27. Epub 2006 Jan 5.

Moskopp, D.; Spiegelberg, A.: Monitoring des intrakraniellen Drucks. In: Moskopp, D.; Wassman, H.: *Neurochirurgie*. Schattauer. Stuttgart, New York, 2005

Nader ND, Simpson G, Reedy RL. Middle ear pressure changes after nitrous oxide anesthesia and its effect on postoperative nausea and vomiting. *Laryngoscope.* 2004 May;114(5):883–886.

Nagahara K, Fisch U, Yagi N. Perilymph oxygenation in sudden and progressive sensorineural hearing loss. *Acta oto-laryngologica*, 1983; 96:57-68.

Nakashima T, Naganawa S, Sone M, Tominaga M, Hayashi H, Yamamoto H, Liu X, Nuttall AL. Disorders of cochlear blood flow. *Brain Res Brain Res Rev.* 2003 Sep;43(1):17-28.

Noffsinger PD, Olsen WO. Post exposure responsiveness in the auditory system. II. Sensitization and desensitization. *J. Acoust. Soc Am.* 1970. 47, 552-564.

Noffsinger PD, Tillman TW. Post exposure responsiveness in the auditory system. I. Immediate sensitization. *J. Acoust. Soc. Am.* 1970. 47, 552-564.

Okubo H, Akizuki H, Kawashima N, Morita Y, Ito Z, Ase Y, Nakata H, Kusakari J. Distortion-product otoacoustic emissions in experimentally induced hydropic ears. *Acta Otolaryngol Suppl.* 1995;519:97-101.

Olzowy B, von Gleichenstein G, Canis M, Mees K. Distortion product otoacoustic emissions for assessment of intracranial hypertension at extreme altitude? *Eur J Appl Physiol.* 2008 May;103(1):19-23. Epub 2008 Jan 11.

Perreault L, Normandin N, Plamondon L, Blain R, Rousseau P, Girard M, Forget G. Middle ear pressure variations during nitrous oxide and oxygen anaesthesia. *Can Anaesth Soc J.* 1982 Sep;29(5):428-34.

Plinkert PK, Ptak M (1994) Changes in transitory evoked otoacoustic emissions and acoustic distortion products in disorders of eustachian tube ventilation. *HNO* 42(7):434–440

Psarommatas IM, Tsakanikos MD, Kontorgianni AD, Ntouniadakis DE, Apostolopoulos NK. Profound hearing loss and presence of click-evoked otoacoustic emissions in the neonate: a report of two cases. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 1997 Apr 11;39(3):237-43.

Pumphrey RJ, Gold T, Hearing I. The Cochlea as a Frequency Analyzer. *Proceedings of the Royal Society, Series B, Biological Sciences* (1948) **135** (881): 462–491

Rebillard G, Lavigne-Rebillard M (1992) Effect of reversible hypoxia on the compared time courses of endocochlear potential and  $2f_1$ -  $f_2$  distortion products. *Hear Res* 62:142–148

Rebillard G, Klis JF, Lavigne-Rebillard M, Devaux P, Puel JL, Pujol R (1993) Changes in  $2f_1$ -  $f_2$  distortion product otoacoustic emissions following alterations of cochlear metabolism. *Br J Audiol* 27(2):117–121

Reid A, Marchbanks RJ, Martin R, et al. Mean intracranial pressure monitoring by an audiological technique—a pilot study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1989;52:610–12

Sanchez-Aparicio P, Mota-Rojas D, Verduzco-Mendoza A, Arch-Tirado E, Hernandez-Gonzalez R, Alonso-Spilsbury M, Gonzalez-Lozano M, Alfaro-Rodriguez A, Uribe-Escamilla R, Becerril-Herrera M, Trujillo-Ortega ME. Reference Values for Blood Gas Analysis, Electrolytes and Critical Biochemical Variables for Short-Hair-English and Duncan-Hartley Guinea Pigs Anaesthetized with Xylazine-Ketamine. *Journal of Animal and Veterinary Advances* Year: 2009 | Volume: 8 | Issue: 10 | Page No.: 1893-1899

Sawada S, Mori N, Mount RJ, Harrison RV. Differential vulnerability of inner and outer hair cell systems to chronic mild hypoxia and glutamate ototoxicity: insights into the cause of auditory neuropathy. *J Otolaryngol* (2001) 30:106–114

Schmiedt RA, Adams JC. Stimulated acoustic emissions in the ear canal of the gerbil. *Hear. Res.* (1981) 5, 295-305.

Schweinfurth JM, Cacace AT. Cochlear ischemia induced by circulating iron particles under magnetic control: an animal model for sudden hearing loss. *Am J Otol.* 2000 Sep;21(5):636-40.

Seidensticker Y. The anaesthesia with fentanyl, medetomidine and midazolam in guinea pigs and the regulation of postanesthesia period by means of antagonization with naloxone and atipamezol both with and without sarmazenil. München, Univ., Diss., 2004

Shi Y, Martin WH (1997) ABR and DPOAE detection of cochlear damage by gentamicin. *J Basic Clin Physiol Pharmacol* 8(3):141–155

Soucek S, Michaels L, Frohlich A (1987) Pathological changes in the organ of Corti in presbycusis as revealed by microslicing and staining. *Acta Otolaryngol Suppl* 436: 93–102

Steiner LA, Andrews PJ (2006) Monitoring the injured brain: ICP and CBF. *Br J Anaesth* 97(1):26–38

Strassen U., Deppe C., Mees K., Plesnila N., Canis M., Strieth S., Olzowy B. Diagnostic Potential of Distortion Product Otoacoustic Emissions in Noninvasive Assessment of Elevated Intracranial Pressure: Different Patterns of DPOAE Alterations in the Guinea Pig. *ISRN Anesthesiology*, Volume 2011, Article ID 596848, 6 pages, doi:10.5402/2011/596848

Suckfull M, Winkler G, Thein E, Raab S, Schorn K, Mees K (1999) Changes in serum osmolarity influence the function of outer hair cells. *Acta Otolaryngol* 119(3):316–321

Taccone FS, Castanares-Zapatero D, Peres-Bota D, Vincent JL, Berre' J, Melot C. Cerebral autoregulation is influenced by carbon dioxide levels in patients with septic shock. *Neurocrit Care*. 2010 Feb;12(1):35-42.

Tasaki I, Spyropoulos CS. Stria vascularis as source of endocochlear potential. *J Neurophysiol*. 1959 Mar;22(2):149-55.

Thalmann R, Miyoshi T, Thalmann I. The influence of ischemia upon the energy reserves of inner ear tissues, *Laryngoscope*, 82 (1972) 2249–2272.

Trautwein P., Hofstetter P., Wang J., Salvi R.J., Nostrand A. (1996) Selective inner hair cell loss does not alter distortion product otoacoustic emissions. *Hear.Res.* 96: 71-82.

Ueda H, Nakata S, Hoshino M. Effects of effusion in the middle ear and perforation of the tympanic membrane on otoacoustic emissions in guinea pigs. *Hear Res.* 1998 Aug;122(1-2):41-6.

Voss SE, Horton NJ, Tabucchi TH, Folowosele FO, Shera CA. Posture-induced changes in distortion-product otoacoustic emissions and the potential for noninvasive monitoring of changes in intracranial pressure. *Neurocrit Care*. 2006;4(3):251-7.

Wagner W, Heppelmann G, Vonthein R, Zenner HP. Test-retest repeatability of distortion product otoacoustic emissions. *Ear Hear.* 2008 Jun;29(3):378-91.

Wake M, Anderson J, Takeno S, Mount RJ, Harrison RV (1996) Otoacoustic emission amplification after inner hair cell damage. *Acta Otolaryngol* 116(3):374–381

Widick MP, Telischi FF, Lonsbury-Martin BL, Stagner BB. Early effects of cerebellopontine angle compression on rabbit distortion-product otoacoustic emissions: a model for monitoring cochlear function during acoustic neuroma surgery. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1994 Oct;111(4):407-16.

Whitehead ML, Stagner BB, McCoy MJ, Lonsbury-Martin BL. Dependence of distortion-product otoacoustic emissions on primary levels in normal and impaired ears: II. Asymmetry in the  $L_1$ ,  $L_2$  space. *J. Acoust. Soc. Am.*, 97 (1995), pp. 2359–2377

Whitehead ML, Lonsbury-Martin BL, Martin GK. Evidence for two discrete sources of  $2f_1$ -  $f_2$  distortion-product otoacoustic emission in rabbit. II Differential physiological vulnerability. *J Acoust Soc Am* (1992) 92(5):2662–2682

Withnell RH, Shaffer LA, Talmadge CL. Generation of DPOAEs in the guinea pig. *Hear Res.* 2003 Apr;178(1-2):106-17.

Wright A, Davis A, Bredberg G et al. (1987) Hair cell distributions in the normal human cochlea. A report of a European working group. *Acta Otolaryngol Suppl* 436: 15–24

Zenner HP, Zimmermann U, Schmitt U. Reversible contraction of isolated mammalian cochlear hair cells. *Hear Res.* 1985 May;18(2):127-33.

Zurek PM. Spontaneous narrowband acoustic signals emitted by human ears. *J Acoust Soc Am.* 1981 Feb;69(2):514-23.



## 7. Abkürzungsverzeichnis

A.	Arteria
CO <sub>2</sub>	Kohlenstoffdioxid
CPP	Cerebraler Perfusionsdruck (cerebral perfusion pressure)
dB	Dezibel
DP-Gram	Funktion der DPOAE-Pegel gegen die Stimulusfrequenz
DPOAE	Distorsionsprodukte otoakustischer Emissionen
EOAE	Evozierte Otoakustische Emissionen
EP	Endocochleäres Potential
ERA	evoked response audiometry
f <sub>1</sub> , f <sub>2</sub>	Frequenzen der Stimulustöne
f <sub>dp</sub>	Frequenz des Distorsionsproduktes
FiO <sub>2</sub>	Inspiratorische Sauerstoffkonzentration
HES	Hydroxyethylstärke
ICP	Intrakranieller Druck (intracranial pressure)
IHC	Innere Haarzellen (inner hair cells)
(k)Hz	(Kilo)Hertz
L <sub>1</sub> , L <sub>2</sub>	Pegel der Stimulustöne
MAP	Mittlerer arterieller Druck (mean arterial pressure)
MW	Mittelwert
N.	Nervus
N <sub>2</sub> O	Distickstoffmonoxid
O <sub>2</sub>	Sauerstoff
OAE	Otoakustische Emissionen
OHC	Äußere Haarzellen (outer hair cells)
pO <sub>2</sub>	Sauerstoffpartialdruck
pCO <sub>2</sub>	Kohlenstoffdioxidpartialdruck
SaO <sub>2</sub>	Sauerstoffsättigung
SD	Standardabweichung (standard deviation)
SFOAE	Stimulus-Frequenz Otoakustische Emissionen
SOAE	Spontane Otoakustische Emissionen
SPL	Sound pressure level
TEOAE	Transitorisch evozierte Otoakustische Emissionen

## 7. Danksagung

Ich möchte mich bei allen bedanken, die diese Arbeit ermöglicht haben.

Herrn Prof. Dr. med. Alexander Berghaus danke ich dafür, dass ich diese Arbeit an der von ihm geleiteten Klinik erstellen konnte.

Herrn Prof. Dr. med. Ulrich Pohl, Direktor des Walter- Brendel- Zentrums für experimentelle Medizin der Ludwig-Maximilians-Universität München, dass wir unsere Versuche an dem von ihm geleiteten Institut für chirurgische Forschung durchführen konnten.

Herrn Prof. Dr. med. Klaus Mees, der mir die Arbeit vermittelt hat und den Grundstein für die Arbeitsgruppe gelegt hat.

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Bernhard Olzowy, der mir das Thema überlassen hat, mich stets auf geduldige und freundschaftliche Weise mit Rat und Tat unterstützt hat und mich nicht nur in wissenschaftlichen, sondern auch in klinischen und sogar alpinistischen Belangen weitergebildet hat.

Des Weiteren möchte ich mich bei allen Mitarbeitern und Doktoranden des Walter- Brendel- Zentrums für experimentelle Medizin bedanken, insbesondere bei Christoph Deppe und Ulrich Straßen, für die freundliche Unterstützung.

Danken möchte ich auch meinen Eltern (auch wenn sie sich das verbitten), denn ohne ihre Unterstützung wäre diese Arbeit tatsächlich nicht zustande gekommen.

Zum Schluss und am allermeisten möchte ich mich bei meiner Frau und meinen Kindern bedanken, und das nicht nur für die Motivation, die Arbeit wieder aufzunehmen und die Zeit, sie auch fertigzustellen.